



“La Sapienza” Università di Roma

Dipartimento di Neurologia e Psichiatria

Tesi di Dottorato in

*Neuroscienze, Chirurgia maxillo-facciale e patologia del sistema  
uditivo (XXIV Ciclo)*

**“Effetti del topiramato sulla vasoreattività cerebrale valutata mediante Doppler  
transcranico in pazienti affetti da emicrania con e senz’aura durante il periodo  
interictale”**

Candidata

Dott.ssa Maria Chiara Ricciardi

Relatore

Prof. Gian Luigi Lenzi

Anno Accademico 2011/12

## Indice

Introduzione	pag.2
Aspetti epidemiologici e clinici	pag.4
Aspetti fisiopatogenetici	pag.6
Aspetti terapeutici	pag.15
Note di ultrasonografia. Doppler transcranico	pag.23
Vasoreattività cerebrale	pag.27
Obiettivi dello Studio	pag.33
Materiali e Metodi	pag.34
Analisi statistica	pag.37
Risultati	pag.38
Discussione	pag.39
Conclusioni	pag.48
Tabelle e figure	pag.49
Bibliografia	pag.53

## Introduzione

Recenti acquisizioni fisiopatologiche definiscono l'emicrania come un disordine caratterizzato da un'ampia disfunzione nei meccanismi di processazione sensoriale, cosicché la percezione di normali stimoli sensitivi, somatosensitivi, visivi, uditivi ed olfattori sembrerebbe subire una facilitazione a livello dei meccanismi di trasmissione centrale (Sprenger e Goadsby, 2009). Tale disfunzione avrebbe una radicata base genetica (Russell, 2008) e porterebbe alla percezione di quel complesso di cefalea, fotofobia, fonofobia, osmofobia e nausea che costituisce l'essenza stessa di un attacco di emicrania. Recentemente è inoltre emersa in letteratura l'ipotesi, sostenuta da diversi studi, che l'emicrania possa essere correlata ad una disfunzione endoteliale, sia quale causa che come diretta conseguenza (Tietjen, 2009). Sebbene l'alterazione riguardi tutte le funzioni endoteliali, quella di gran lunga più studiata è la vasodilatazione endotelio-dipendente. Infatti l'endotelio, essendo da un lato bersaglio di segnali meccanici e neuro-ormonali, dall'altro fonte di mediatori vasoattivi, svolge un ruolo fondamentale nel controllo della funzionalità delle arterie e del microcircolo. Fra questi mediatori, l'ossido nitrico (NO) ha un'importanza preminente nel controllo fisiologico del tono vasale, sia in condizioni basali che in risposta a stimoli di varia natura. Inoltre, riveste un ruolo chiave nei processi di sensibilizzazione al dolore che si verificano negli attacchi di emicrania (Olesen et al., 1995). La vasodilatazione NO-dipendente sembra giocare un ruolo cruciale nei meccanismi di regolazione chimica sottesi alla reattività vasomotoria cerebrale all'ipercapnia. Una recente indagine condotta su 21 pazienti affetti da emicrania di cui 10 con aura, valutando la funzione endoteliale mediante la misurazione ecografica a livello dell'arteria brachiale della vasodilatazione flusso-mediata secondaria all'iperemia reattiva, ha evidenziato un'incrementata vasodilatazione nei soggetti emicranici rispetto ai controlli. Poiché tale risposta risulta essere principalmente mediata dall'ossido nitrico prodotto dall'endotelio, è stata ipotizzata un'ipersensibilità a tale mediatore chimico nei soggetti con emicrania (Vernieri et al., 2010). Parallelamente, altri studi pubblicati in letteratura hanno indagato la reattività vasomotoria cerebrale in risposta all'ipercapnia mediante Doppler transcranico in soggetti affetti da emicrania, portando a risultati contrastanti.

Mentre alcuni studi, infatti, documentavano un incremento della vasoreattività cerebrale, altri ne evidenziavano una riduzione; suggerendo in entrambi i casi una disfunzione autonoma degli stessi meccanismi di regolazione vasale nei soggetti affetti da emicrania (Thomsen et al, 1995; Silvestrini et al, 1996; Vernieri et al., 2008). Il presente studio nasce da questi recenti e contrastanti risultati e la sua finalità è quella di verificare due distinte ipotesi: 1) confermare una significativa differenza nella risposta vasomotoria cerebrale all'ipercapnia valutata mediante Doppler transcranico durante il periodo interictale in soggetti emicranici con e senz'aura rispetto a controlli sani; 2) documentare se un farmaco utilizzato nella terapia preventiva dell'emicrania, come il topiramato, con un meccanismo di azione non diretto sul sistema vascolare sia in grado di modulare la vasoreattività cerebrale nello stesso gruppo di soggetti emicranici.

## Aspetti epidemiologici e clinici

L'emicrania rappresenta una condizione cronica caratterizzata da attacchi ricorrenti di cefalea disabilitante. Questi attacchi si manifestano spesso con una combinazione di dolore unilaterale, pulsante, di intensità severa e di durata variabile da 4 a 72 ore associato ad un'importante sintomatologia neurovegetativa caratterizzata da nausea, foto- e fonofobia, osmofobia e vomito. Si tratta di una patologia estremamente comune nella popolazione generale, che colpisce il 12% circa degli uomini ed il 24% delle donne (Lipton et al., 2003). Negli Stati Uniti circa il 18% delle donne ed il 6% degli uomini presenta uno o più attacchi di emicrania all'anno (Stewart et al., 1992). Si è inoltre calcolato come il 15% circa della popolazione generale presenti almeno 18 giorni di emicrania severa all'anno, mentre l'1% presenta almeno un giorno a settimana di cefalea (Stewart et al., 1994). La prevalenza dell'emicrania varia considerevolmente in base all'età e risulta maggiore in quella fascia d'età compresa tra i 35 ed i 45 anni. Indubbiamente risulta più frequente nel sesso femminile con un rapporto F:M di 2-3:1, a seconda delle diverse casistiche. Mentre l'emicrania senz'aura colpisce circa il 15% della popolazione, la forma con aura ne interessa invece l'8% (Russell et al., 1995). Negli Stati Uniti i costi annuali presunti determinati dalla compromissione dell'attività lavorativa risultano pari a 13 miliardi di dollari (Ferrari, 1998). L'emicrania, inoltre, ha effetti deleteri sulla qualità di vita dei pazienti, persino quando non manifestano l'attacco, quello che viene comunemente indicato come *interictal burden* (Dahlöf and Dimenäs, 1995). Recenti evidenze suggeriscono come tale patologia, nonostante i pesanti effetti disabilitanti derivanti dagli attacchi, sia tuttora subdiagnosticata e non adeguatamente trattata (Lipton et al., 2001).

Nella seconda edizione della *International Classification of Headache Disorders* (ICHD-II) vengono identificati 6 differenti tipi di emicrania, alcuni dei quali suddivisi in due o più forme. L'emicrania rappresenta una forma comune di cefalea primaria, suddivisa in due principali categorie: senza aura e con aura. Quest'ultima è caratterizzata dalla presenza di sintomi neurologici focali che precedono o accompagnano la fase algica. L'aura è costituita principalmente da disturbi visivi (99% dei casi nello studio di Russell), consistenti nella coesistenza

di sintomi visivi positivi e negativi della durata abitualmente di 20-30 minuti. L'emicrania senz'aura è caratterizzata da una grande variabilità interindividuale, infatti a parte l'andamento degli attacchi, tutte le altre caratteristiche cliniche, risultano, se prese singolarmente, fortemente indicative ma non obbligatorie per la diagnosi.

Attualmente si ritiene che l'emicrania sia caratterizzata da una condizione di disfunzione neurovascolare in grado di rendere i soggetti colpiti particolarmente vulnerabili a fattori in grado di scatenare le loro crisi. Il concetto di "soglia emicranica", emerso negli ultimi anni, geneticamente determinato, sembrerebbe rivestire un ruolo essenziale nella vulnerabilità individuale. Condizioni di ridotta "soglia emicranica", così come l'intervento di particolari fattori precipitanti sono in grado di favorire il ripetersi degli attacchi. Tale soglia può essere a sua volta modulata da fattori endogeni ed esogeni, in una complessa interazione genotipo-ambiente che condiziona l'espressività fenotipica (Nappi et al., 2000). Su questo terreno predisponente interverrebbero poi fattori precipitanti, in grado di causare l'insorgere e la ricorrenza di crisi emicraniche, rendendo così conto delle possibili variazioni di frequenza nel tempo. Stimoli o comportamenti che non causano problemi in soggetti non emicranici, sono invece in grado di scatenare un attacco di emicrania in individui predisposti (Martini et al., 2001). Sembrerebbe quasi che la soglia emicranica sia caratterizzata da una mancata capacità di adattamento ai cambiamenti, che si tradurrebbe sul piano neurobiologico in alterati meccanismi di processazione sensoriale. Secondo alcuni autori tali anomalie funzionali possono essere considerate un marker fenotipico, geneticamente determinato, di predisposizione per la patologia (Nappi et al., 2001).

## Aspetti fisiopatogenetici

L'emicrania viene attualmente considerata come un disordine in gran parte ereditario del cervello caratterizzato da una complessa ma stereotipata disfunzione dei meccanismi di processazione sensoriale (Sprenger e Goadsby, 2009). È ad oggi ampiamente riconosciuto il ruolo del sistema trigeminovascolare nella patogenesi del dolore emicranico, restano tuttavia ipotetici le fasi e i meccanismi che portano al suo innesco (Moskowitz et al, 1993; May et al., 1999). Il sistema trigeminovascolare forma una complessa rete difensiva a protezione del cervello dall'ingresso di sostanze nocive nella circolazione (Mayberg et al., 1981; Mayberg et al., 1984). Intorno ai vasi cerebrali di grosso calibro, ai vasi piali, ai seni venosi e alla dura madre si dispone, circondandoli, un plesso di fibre nervose in gran parte amieliniche provenienti dalla divisione oftalmica del ganglio trigeminale e, a livello della fossa cranica posteriore, dalle radici dorsali cervicali superiori (Arbab et al. 1986). Le ricerche di Moskowitz et al. hanno teorizzato che l'attacco di emicrania possa essere il risultato di un'inflammatione neurogenica sterile dei tessuti perivascolari intracranici (Moskowitz et al., 1984). Questa teoria trova il proprio terreno nelle recenti conoscenze di neurobiologia sulle fibre trigeminali nocicettive. E' stato infatti osservato come la stimolazione dei vasi intracranici così come quella del seno sagittale superiore sia senza dubbio dolorosa nell'uomo (McNaughton e Feindel, 1977), e i nervi durali che innervano i vasi intracranici sono in gran parte costituiti da fibre mieliniche di piccolo diametro e da fibre amieliniche (Cushing, 1904). Poichè la stimolazione durale perivascolare risulta dolorosa, ed il dolore viene riferito al capo (Wolff, 1948), si è teorizzato un modello sperimentale per i meccanismi potenzialmente coinvolti nell'emicrania. Le fibre nocicettive trigeminali, una volta attivate, provocherebbero la liberazione di neuropeptidi vasoattivi quali il peptide associato al gene per la calcitonina (CGRP), la sostanza P, la neurochinina A e l'ossido nitrico, in grado di dilatare i vasi cerebrali ed aumentare la permeabilità vascolare inducendo una sorta di inflammatione neurogenica locale . Allo stesso tempo, tali fibre sarebbero tuttavia in grado di trasmettere segnali nocicettivi al sistema nervoso centrale. I segnali sarebbero infatti condotti lungo le fibre trigeminovascolari, diffondendo così la

risposta infiammatoria ai tessuti locali e trasmettendo informazioni nocicettive centralmente (Moskowitz et al., 1984; Markowitz et al., 1987).

Queste afferenze proiettano alla *pars caudata* del nucleo trigeminale (TNC) e ai segmenti superiori (C1 e C2) del midollo cervicale (Strassman et al., 1986); da queste strutture, funzionalmente riunite nel cosiddetto “complesso trigeminocervicale”, neuroni di secondo ordine trasporterebbero gli impulsi rostralmente a strutture encefaliche coinvolte nella percezione del dolore, compresi taluni nuclei talamici e la sostanza grigia periacqueduttale (PAG). A livello talamico la processazione delle informazioni nocicettive a partenza dalle strutture vascolari si verifica nei nuclei ventroposteromediale, mediale ed intralaminari (Zagami e Goadsby, 1991). La PAG è coinvolta nella percezione del dolore craniovascolare non solo mediante proiezioni ascendenti al talamo, ma anche attraverso una modulazione discendente, principalmente inibitoria, delle informazioni afferenti nocicettive (Knight e Goadsby., 2001). Dai neuroni di secondo ordine del TNC prendono inoltre origine rami collaterali che proiettano a nuclei autonomici del troncoencefalo ed all'ipotalamo, responsabili dei sintomi disautonomici associati alla cefalea. Le informazioni nocicettive giungerebbero infine alla corteccia parietale e insulare per la rappresentazione sensoriale modalità-specifica e alla corteccia cingolata anteriore per la motivazione affettiva del dolore (Bolay e Moskowitz, 2002). E' stato inoltre dimostrato da recenti studi effettuati mediante risonanza magnetica funzionale come durante l'attacco acuto di emicrania si assista all'attivazione di altre aree cerebrali come la corteccia frontale, la corteccia di associazione uditiva, l'amigdala e i gangli della base (Derbyshire et al., 1997; Bahra et al., 2001); (figura 1).

Sebbene questa teoria riesca a spiegare il meccanismo sotteso a un attacco di emicrania, e in particolare la genesi del dolore cranico e la sintomatologia neurovegetativa associata, restano ancora ipotetici i meccanismi patogenetici responsabili dell'attivazione del sistema trigeminovascolare, e quindi il *primum movens* dell'attacco. A tale proposito sembrano rivestire attualmente un ruolo chiave il tronco cerebrale e la *spreading depression* corticale (CSD)



Sempre maggiori dati provenienti da studi su esseri umani suggeriscono che l'aura tipica possa rappresentare la manifestazione clinica di un fenomeno simile alla CSD di Leao ( Sanchez del Rio e Reuter, 2004; Moskowitz, 2007). La CSD è un'onda di depolarizzazione neuronale, seguita da una transitoria depressione dell'attività bioelettrica (Shibata, 2007). Quest'onda di depolarizzazione andrebbe a coinvolgere progressivamente la corteccia cerebrale a partire da quella occipitale, potendo quindi arrestarsi o diffondere anteriormente, dando luogo a fenomeni di aura visiva, sensitiva, motoria, a seconda delle aree corticali interessate dal fenomeno (Goadsby, 2001). Il glutammato sembrerebbe essere coinvolto nella genesi e nella propagazione della CSD, agendo sui recettori N-Metil-D-Aspartato (NMDA). Infatti, in diversi modelli sperimentali, la CSD risultava arrestata da antagonisti dei recettori NMDA (Gorji et al., 2001). E' stato inoltre documentato come a tali fenomeni elettrici corrispondano modificazioni del flusso ematico cerebrale regionale, consistenti in una prima fase di iperemia focale durante la depolarizzazione ed in seguito in una fase di ipoperfusione cerebrale coincidente con la riduzione dell'attività neuronale (Lauritzen, 1994). La patogenesi della CSD risulta complessa e ad oggi non del tutto compresa. Questo fenomeno ictale sembrerebbe condividere alcuni meccanismi patogenetici con l'epilessia, coinvolgendo canali ionici e molti sistemi neurotrasmettitoriali. Alterazioni a tali livelli potrebbero creare una condizione di anormale eccitabilità, con conseguente incremento della suscettibilità alla CSD, come osservato in alcune forme ereditarie di emicrania, a carattere autosomico dominante, geneticamente determinate (Dalkara et al., 2006). La relazione tra CSD e l'aura emicranica nell'uomo è sostenuta da modelli animali transgenici di emicrania e da studi effettuati mediante risonanza magnetica funzionale (BOLD-fMRI) e magnetoencefalografia (MEG) in soggetti emicranici (Bowyer et al., 2001; Hadjikhani et al., 2001; Schwedt and Dodick, 2009). Un possibile legame tra la CSD, correlato elettrofisiologico dell'aura visiva nell'uomo, e la cefalea è sostenuto dall'osservazione che la CSD è in grado di attivare le fibre trigeminali afferenti meninge, inducendo un incremento tardivo di lunga durata del flusso ematico delle arterie meninge e determinando uno stravasamento plasmatico a livello della dura madre con aumento della concentrazione di ioni potassio, prostaglandine, ossido nitrico e acido arachidonico (Wei et al., 1992; Strassman et

al., 1996). Pertanto, la CSD sarebbe in grado non soltanto di indurre i sintomi dell'aura, ma anche di spiegare la cefalea nei pazienti con aura. Questa teoria tuttavia, sembra non essere supportata da recenti studi clinici controllati che hanno documentato come il tonabersat, un benzopirano, possibile bloccante delle *gap-junctions* ed inibitore della CSD, non sia in grado di impedire lo scatenarsi del dolore emicranico ma sia invece capace di prevenire l'aura (Goadsby et al., 2009). E' stato suggerito come la CSD rivesta un ruolo anche nell'emicrania senz'aura ma i recenti studi con questa molecola hanno reso meno convincente questa teoria. L'aura silente, nella quale la CSD si verificherebbe in regioni non clinicamente eloquenti, in grado comunque di attivare le afferenze trigeminali, risulta un concetto piuttosto vacillante, quando mirato a creare una spiegazione unificatrice dell'emicrania con e senz'aura. Un'ipotesi alternativa considera l'aura emicranica e la cefalea come processi paralleli piuttosto che sequenziali. In tal caso, la CSD potrebbe rappresentare un fenomeno sottostante la sola emicrania con aura, mentre un diverso meccanismo patogenetico, identico nell'emicrania con e senz'aura, potrebbe essere responsabile della fase algica.

Un'osservazione cruciale negli studi di neuroimmagine funzionale in soggetti affetti da emicrania è stata che talune aree del tronco cerebrale sono attive durante la fase algica e tale attivazione persiste anche in seguito a trattamento efficace sul dolore (Afridi et al., 2005; Bahra et al., 2001; Denuelle et al., 2004). Queste aree attive si trovano a livello del mesencefalo dorsale e del ponte dorsolaterale. Recentemente è stata inoltre suggerita un'attivazione a livello dell'ipotalamo (Denuelle et al., 2007). L'attivazione del grigio periacqueduttale corrisponde a quella regione cerebrale inizialmente identificata da Raskin (1987), e successivamente confermata da Veloso et al., (1998), in grado di causare una cefalea di tipo emicranico quando stimolata in pazienti con elettrodi impiantati per il controllo del dolore. Inoltre, lesioni a questo livello, causate, per esempio, da patologie demielinizzanti, sono in grado di provocare emicrania (Haans et al., 1993). Nell'animale da esperimento è stato evidenziato come la stimolazione di un particolare nucleo del tronco encefalico, il *locus coeruleus* (LC), il principale nucleo noradrenergico centrale, sia in grado di ridurre il flusso ematico cerebrale in maniera frequenza-dipendente (Goadsby et al., 1982), attraverso un meccanismo

legato all'adrenorecettore  $\alpha^2$ . Tale riduzione di flusso risulta massimale a livello della corteccia occipitale (Goadsby e Duckworth, 1989). Parallelamente ad una riduzione totale del 25% del flusso ematico cerebrale, è stata documentata una dilatazione del distretto vascolare extracranico (Goadsby et al., 1982). Inoltre, il principale nucleo troncale contenente serotonina, il nucleo dorsale del rafe a livello mesencefalico, risulta in grado di incrementare il flusso ematico cerebrale, quando attivato (Goadsby et al., 1991). Il nucleo magno del rafe e l'adiacente formazione reticolare rivestono un ruolo cruciale nella modulazione di informazioni sensoriali dei neuroni a livello del nucleo trigeminale spinale (Sessle et al., 1981), inviando proiezioni serotoninergiche ad entrambi i nuclei trigeminali ed al midollo spinale nel gatto e nel ratto (Lovick e Robinson, 1983). La stimolazione del nucleo magno del rafe è inoltre in grado di produrre una potente inibizione delle risposte nocicettive a partenza dal complesso trigeminocervicale (Lambert et al., 2008). E' stato inoltre osservato come tale nucleo venga controllato da proiezioni corticali discendenti, dal momento che l'effetto inibitorio di tale nucleo sui neuroni trigeminali può essere antagonizzato da multiple onde di CSD, suggerendo quindi una modulazione indiretta del complesso trigeminocervicale da parte della corteccia cerebrale attraverso il sistema cortico-magno-trigeminale (Lambert et al., 2008). La stimolazione delle fibre afferenti nocicettive trigeminovascolari porta all'espressione della proteina nucleare fos nella PAG ventrolaterale (Hoskin et al., 2001). L'attivazione di questi neuroni mediante stimolazione elettrica diretta o chimica (Knight et al., 2003) è in grado di inibire il traffico nocicettivo trigeminovascolare nel complesso trigeminocervicale. E' interessante notare come l'iniezione locale di agatossina, un bloccante dei canali del calcio P/Q voltaggio-dipendenti sia in grado di facilitare il traffico nocicettivo trigeminovascolare (Knight et al., 2002) e questo bersaglio è riconosciuto quale causa dell'emigrania emiplegica familiare nel 55% dei casi (Ophoff et al., 1996). Questi dati suggeriscono l'importante ruolo rivestito dalla PAG ventrolaterale nell'emigrania. Secondo l'ipotesi del generatore troncale la causa primitiva dell'emigrania potrebbe consistere in una disfunzione episodica di tali nuclei troncali coinvolti nel controllo centrale della nocicezione (Goadsby, 2001).

Nei pazienti con emicrania, la cefalea sembra essere spesso associata ad un meccanismo di sensibilizzazione al dolore nel quale si assiste ad una facilitazione degli impulsi nelle fibre nervose nocicettive. Il fenomeno della sensibilizzazione centrale e periferica è stato inoltre dimostrato in modelli sperimentali di emicrania (Malick e Burstein, 2000). I nocicettori trigeminali meningei periferici attivati durante l'attacco di emicrania vanno incontro ad un processo di sensibilizzazione (Goadsby, 2005). Tale processo è connesso alla vasodilatazione dei vasi meningei, in grado, a loro volta, di scatenare l'infiammazione neurogenica (Burstein et al., 2000). I neuroni rilasciano peptidi vasoattivi, sensibilizzando in tal modo i nocicettori vasali periferici, con conseguente ridotta soglia di attivazione degli stessi e quindi aumentata risposta anche a stimoli di ridotta intensità. Questa riduzione della soglia di attivazione a livello dei terminali nocicettivi periferici sarebbe successivamente seguita da sensibilizzazione dei neuroni di secondo e terzo ordine del sistema nervoso centrale. Questa sensibilizzazione centrale è responsabile di un'alterata processazione degli stimoli nocicettivi a livello troncale, principalmente nel nucleo caudale del trigemino e nella PAG (Knight e Goadsby, 2001). La sensibilizzazione centrale è responsabile di molte delle caratteristiche temporali e del corredo sintomatologico dell'emicrania. Recenti studi hanno dimostrato come il fenomeno dell'allodinia cutanea, frequentemente osservato in pazienti emicranici a livello del volto e del capo, sia il risultato del processo di sensibilizzazione centrale che avverrebbe a causa di attacchi emicranici ripetuti in soggetti predisposti (Burstein et al., 2000). Il processo di sensibilizzazione centrale possiede un forte impatto sull'efficacia di terapie sintomatiche ed è responsabile della persistenza della cefalea nelle forme di emicrania cronica (Burstein et al., 2005).

La percezione del dolore emicranico, quindi, non dipenderebbe solo dai meccanismi di insulto e nocicezione periferica, ma da un disordine centrale dei meccanismi di modulazione degli impulsi nocicettivi afferenti che coinvolge primariamente i neuroni del complesso trigeminocervicale e secondariamente altri nuclei troncali e diencefalici.

Numerosi approcci neurofisiologici, in particolare studi che hanno impiegato i potenziali evocati e la stimolazione magnetica transcranica, hanno evidenziato

come la corteccia cerebrale e verosimilmente talune strutture sottocorticali, presentino una disfunzione nelle fasi interictali sia nell'emicrania con aura che in quella senz'aura (Shoenen et al., 2003; Shoenen et al., 2006). Studi di neurofisiologia condotti durante il periodo interictale hanno mostrato, infatti, per un numero di differenti modalità sensoriali che il cervello di pazienti emicranici è caratterizzato da una perdita della *habituation* delle risposte evocate. Dal momento che recenti studi che hanno utilizzato la stimolazione magnetica transcranica hanno riportato risultati contrastanti, ad oggi è ancora da elucidare se le alterazioni neurofisiologiche siano causate da un'aumentata ipereccitabilità corticale (verosimilmente legata ad una ridotta inibizione) ovvero da un'intrinseca responsività abnorme interictale della corteccia (Coppola et al., 2007). Alterazioni nel funzionamento di canali ionici voltaggio-dipendenti potrebbero rappresentare la base molecolare per l'alterata eccitabilità, sia in strutture corticali che sottocorticali, osservate negli studi neurofisiologici di pazienti emicranici.

E' interessante notare come alterazioni sia dei canali del calcio che di quelli del sodio siano state riportate in alcune famiglie con emicrania emiplegica familiare. Infatti, mutazioni *missense* nel gene CACNA1A sul cromosoma 19, codificante la subunità  $\alpha$  del canale del calcio voltaggio-dipendente di tipo P/Q sono state descritte nell'emicrania emiplegica familiare. Tali mutazioni producono un guadagno di funzione di tali strutture, così da ipotizzare una condizione di maggiore suscettibilità alla CSD in pazienti affetti da tale forma di emicrania (Galletti et al., 2009). Questi canali potrebbero inoltre rivestire un ruolo chiave a livello del sistema trigeminovascolare, portando ad una condizione di ipereccitabilità delle strutture troncali (Pietrobon, 2005). Inoltre le mutazioni geniche identificate in casi di emicrania emiplegica familiare interessano il gene ATP1A2, codificante per la subunità catalitica  $\alpha 2$  della pompa sodio/potassio ATPasi, e recentemente, il gene SCN1A per il canale del sodio voltaggio-dipendente (Pietrobon, 2007). L'identificazione di queste mutazioni ha introdotto un nuovo punto di vista nella ricerca sulla fisiopatologia dell'emicrania. È stato pertanto ipotizzato che l'emicrania possa essere considerata una "canalopatia", e alterazioni dei canali ionici potrebbero rappresentare un potenziale meccanismo dell'abnorme eccitabilità neuronale interictale predisponente all'emicrania

(Pietrobon, 2005; Wessman et al., 2007; Russel, 2008). Bisogna tuttavia utilizzare la giusta cautela nel definire un legame patogenetico tra l'emicrania emiplegica sporadica, l'emicrania con aura e l'emicrania senz'aura, dal momento che le evidenze scientifiche a disposizione non sono sufficienti a definire se tali condizioni condividano la stessa predisposizione genetica. I più comuni fenotipi di emicrania sporadica appaiono come un complesso disordine genetico, nel quale si assiste all'interrelazione tra molteplici e additivi fattori genetici e ambientali. I fattori genetici sembrerebbero essere maggiormente pronunciati nella forma con aura rispetto a quella senz'aura (Sandor et al., 2002). Pertanto il genotipo determinerebbe la suscettibilità per una malattia il cui fenotipo si esprimerebbe solo a seguito di interazioni con fattori ambientali scatenanti. (Russell e Olesen, 1995).

Diversi sistemi neurotrasmettitoriali cerebrali sono stati implicati nell'emicrania. Tra questi, il sistema serotoninergico è stato quello più ampiamente studiato. Alterazioni nel metabolismo della serotonina e nelle risposte mediate dalla serotonina sono state implicate nella fisiopatologia dell'emicrania, sia nel periodo ictale che in quello interictale (Galletti et al., 2009). Un basso tono serotoninergico è in grado di facilitare l'attivazione della via nocicettiva trigeminovascolare e potrebbe predisporre ad attacchi di emicrania (Hamel, 2007). Studi su animali hanno inoltre documentato come i recettori dopaminergici in particolare il sottotipo D2, siano presenti nel sistema trigeminovascolare e come, a tale livello, la trasmissione neuronale sia ridotta da agonisti dopaminergici (Bergerot et al., 2007). Poiché il nucleo caudale del trigemino è stato implicato nella fisiopatologia dell'emicrania, quest'ultimo effetto potrebbe spiegare, almeno in parte, il ruolo della dopamina nella patogenesi dell'emicrania. Un'ipersensibilità del sistema dopaminergico è stata suggerita nell'emicrania sulla base di evidenze cliniche, farmacologiche e genetiche (Akerman e Goadsby, 2007). Gli emicranici manifestano, infatti, una maggiore incidenza di sintomi dopaminergici (nausea, vomito, sudorazione) rispetto a soggetti normali dopo somministrazione di apomorfina (Cerbo et al., 1997).

Ulteriori anomalie neurotrasmettitoriali sono state identificate in soggetti affetti da emicrania. In particolare, un deficit dei sistemi antinocicettivi endogeni è emerso

da studi sul liquido cerebrospinale, suggerendo il loro contributo nell'anomala modulazione dell'informazione nocicettiva trigeminale in soggetti emicranici, specialmente in quelli affetti da forme croniche (Bach 1992; Cupini et al., 2006). Numerosi studi, inoltre, sostengono un ruolo del glutammato nella fisiopatologia dell'emicrania (Sarchielli et al., 2007). Gli studi condotti su esseri umani hanno documentato aumentati livelli di glutammato nel liquido cerebrospinale, nelle piastrine e nel plasma di soggetti emicranici (Ferrari et al., 1990; Peres et al., 2004). Inoltre, diversi dati sostengono l'esistenza di un disequilibrio metabolico quale substrato fisiopatologico degli attacchi di emicrania. Recenti indagini supportano l'esistenza di un disordine dei sistemi energetici mitocondriali (Sparaco et al., 2006) ed una carenza di magnesio a livello sistemico e cerebrale, così come anomalie nel metabolismo del glutammato nell'emicrania (Vikelis e Mitsikostas, 2007). Ricerche in modelli animali hanno rivelato come i recettori NMDA, AMPA e metabotropici del glutammato siano localizzati nelle lamine superficiali del nucleo caudale del trigemino, dove interneuroni e sistemi inibitori discendenti integrano segnali afferenti nocicettivi (Tallksen-Greene et al., 1992). Dal momento che il nucleo caudale del trigemino gioca un ruolo cruciale nella patogenesi dell'emicrania, è verosimile che la modulazione di questi recettori glutamatergici costituisca un bersaglio fondamentale della terapia preventiva dell'emicrania. Il potenziamento della neurotrasmissione glutamatergica potrebbe contribuire ai processi di sensibilizzazione centrale nell'emicrania (Goadsby e Classey, 2000). Inoltre è stato osservato come stimoli nocicettivi siano in grado di incrementare i livelli di glutammato a livello della PAG (Silva et al., 2000). E' stato inoltre suggerito come i recettori glutamatergici ionotropi e metabotropi possano giocare un ruolo importante nei meccanismi di controllo del dolore a livello della PAG (Berrino et al., 2001). Un'alterata attività dei trasportatori del glutammato può inoltre spiegare il livello abnorme di aminoacidi eccitatori in differenti aree cerebrali implicate nell'emicrania, come osservato in alcune forme di emicrania emiplegica (Jen et al., 2005).

## Aspetti terapeutici

La terapia dell'emicrania comprende l'impiego di farmaci cosiddetti sintomatici, da assumere durante l'attacco emicranico, con la finalità di alleviare i sintomi dello stesso, e una terapia preventiva, che il paziente assume quotidianamente per un periodo di tempo variabile, comunque non inferiore ai 3 mesi con lo scopo di ridurre la frequenza degli attacchi, la loro intensità, la durata e l'impatto generale sulla qualità di vita e non da ultimo di promuovere una sinergia di efficacia con la terapia sintomatica (Ramadan e Buchanan, 2006). Oltre ai comuni farmaci analgesici e agli antinfiammatori non steroidei, la terapia acuta comprende farmaci specifici per l'emicrania come i triptani, agonisti dei recettori 5-HT<sub>1B/1D</sub> della serotonina e l'uso di antiemetici qualora sussista una sintomatologia vegetativa d'accompagnamento di particolare intensità, come la metoclopramide o il domperidone (Ramadan e Buchanan, 2006).

La terapia preventiva deve essere presa in considerazione qualora vi siano due o più attacchi al mese responsabili di una disabilità della durata di 3 o più giorni, controindicazioni o inefficacia della terapia sintomatica, utilizzo di farmaci sintomatici per più di due volte a settimana, ovvero in casi particolari come nell'emicrania emiplegica familiare (Silberstein, 2006). Un obiettivo fondamentale del trattamento profilattico è inoltre quello di prevenire la cefalea cronica quotidiana e l'abuso di farmaci sintomatici (Dodick e Silberstein, 2007). Attualmente, le principali classi di farmaci preventivi convenzionali includono antidepressivi,  $\beta$ -bloccanti, calcio-antagonisti e farmaci antiepilettici (Silberstein, 2006). Anche gli antagonisti dei recettori della serotonina (5 HT) sembrano essere efficaci, tuttavia il loro impiego clinico sembra essere limitato (Crowder e Maclay, 1984). Trattamenti emergenti sono rappresentati dagli inibitori dell'enzima convertitore dell'angiotensina (ACE), i bloccanti del recettore di tipo 1 dell'angiotensina II e la tossina botulinica di tipo A (Goadsby, 2007; Stovner, 2007). Alcuni successi clinici limitati sono stati riportati per agenti antipsicotici (Silberstein et al., 2002) e supplementi nutrizionali (Sandor e Afra, 2005). Molte delle molecole attualmente impiegate nella profilassi dell'emicrania sono state approvate per altre indicazioni e solo successivamente il loro utilizzo è stato esteso alla prevenzione dell'emicrania, in accordo con i loro putativi meccanismi



di azione ed in seguito a studi clinici “pilota” (Goadsby, 2007). Più recentemente, tuttavia, sono stati condotti *trial* clinici placebo-controllati su adeguati campioni di pazienti emicranici (Silberstein et al., 2004; Ozyalcin et al., 2005). La scelta del farmaco preventivo per l’emicrania dovrebbe basarsi su alcune considerazioni cliniche maggiori (Silberstein e Goadsby, 2002) come la provata efficacia, un’attenta valutazione del rischio /beneficio, la comorbidità, la *compliance* del paziente e, non da ultimo, il costo del farmaco. Ad oggi rimane speculativo qualsiasi tentativo di spiegare il meccanismo di azione di questi farmaci, non essendo stata del tutto elucidata la fisiopatologia di base della malattia.

I farmaci antidepressivi sono inclusi nelle linee guida *evidence-based* per la terapia preventiva dell’emicrania (Colombo et al., 2004). L’impiego di tali farmaci è basato sull’ipotesi di una disfunzione della disponibilità di serotonina a livello centrale nell’emicrania. Tanto la depressione quanto l’emicrania potrebbero essere considerate come disordini caratterizzati da una bassa attività serotoninergica cerebrale. Non a caso, diversi studi epidemiologici hanno evidenziato un’importante comorbidità dell’emicrania con la depressione (Hamel, 2007). Tra gli antidepressivi triciclici, l’amitriptilina è la sola ad avere una consistente evidenza di efficacia nella terapia preventiva dell’emicrania, a dosaggi inferiori di quelli usualmente impiegati nella depressione (Campo-Arias, 2004). L’azione antiemicranica dell’amitriptilina è legata non soltanto all’inibizione della ricaptazione neuronale di noradrenalina e serotonina ma anche all’azione antagonista sui recettori 5-HT<sub>2</sub> (Perouta e Snyder, 1980). Inoltre, in un modello sperimentale è stato osservato come l’amitriptilina sia in grado di modulare il livello di sintesi della serotonina a livello del nucleo dorsale del rafe. Tale effetto potrebbe preservare la neurotrasmissione serotoninergica a livello delle aree corticali e troncali (Pringsheim et al., 2003). L’innalzamento della soglia del dolore prodotto dall’amitriptilina sembra essere mediato dall’attivazione degli adrenocettori  $\alpha$ 2A (Ghelardini et al., 2000). La somministrazione cronica di amitriptilina sopprime la CSD, effetto che potrebbe rappresentare il potenziale meccanismo d’azione nella profilassi dell’emicrania (Ayata et al., 2006). Il trattamento con farmaci antidepressivi attenuerebbe le modificazioni comportamentali motorie indotte da condizioni di stress non controllato,

attraverso la modulazione del pattern di attivazione neuronale della PAG (Lino-de-Oliveira et al., 2006).

I  $\beta$ -bloccanti rivestono un ruolo importante nel trattamento preventivo dell'emicrania, dal momento che determinano una significativa riduzione della frequenza degli attacchi (Diener, 2003). Sebbene tutti i  $\beta$ -bloccanti siano inibitori competitivi di  $\beta$ -adrenocettori, possono differire tra loro sulla base dell'affinità recettoriale (come ad esempio la selettività  $\beta_1$  e l'attività di agonisti parziali) e delle proprietà farmacocinetiche (Bangalore et al., 2007). I  $\beta$ -bloccanti con un'attività intrinseca simpaticomimetica risultano inefficaci nel trattamento preventivo dell'emicrania (Limmroth e Michel, 2001). Diversi studi clinici attestano l'efficacia del propanololo (80-240 mg/die), timololo (20-30 mg/die) e metaprololo (200 mg/die) nel trattamento preventivo di pazienti emicranici (Linde e Rosnagel, 2004). Il meccanismo d'azione di tali farmaci non è ancora stato del tutto compreso. L'inibizione degli effetti  $\beta_1$ -mediati potrebbe essere considerata il principale meccanismo d'azione. Infatti, il blocco dei recettori  $\beta_1$  sarebbe in grado di inibire il rilascio di noradrenalina e l'attività della tirosina-idrossilasi, enzima limitante la sintesi di noradrenalina (Hanbauer et al., 1975). Inoltre il propanololo è in grado di ridurre la frequenza di scarica neuronale dei neuroni noradrenergici a livello del *locus coeruleus* (Hieble, 2000). I  $\beta$ -bloccanti sono anche capaci di regolare la frequenza di scarica dei neuroni della PAG attraverso un'azione mediata dal GABA (Xiao et al., 2008). Entrambi questi effetti potrebbero essere responsabili dell'azione antiemicranica di tali molecole. Alcuni  $\beta$ -bloccanti sarebbero inoltre in grado di interagire con il sistema serotoninergico attraverso il blocco dei recettori 5-HT<sub>2C</sub> e 5HT<sub>2B</sub> (Kalkman, 1994). Dal momento che la serotonina gioca un ruolo chiave nella fisiopatologia dell'emicrania, gli effetti indotti dai  $\beta$ -bloccanti su questo neurotrasmettitore potrebbero spiegare la loro azione preventiva in pazienti affetti da emicrania. La CSD potrebbe inoltre rappresentare un target per i  $\beta$ -bloccanti nell'emicrania. In un modello sperimentale, è stato osservato come il trattamento con propanololo fosse in grado di sopprimere la *spreading depression* a livello retinico (Wirdemann et al., 1996). In uno studio randomizzato in doppio cieco, nel quale veniva indagato l'effetto del propanololo e del metaprololo sull'ampiezza dei potenziali evocati visivi

(PEV) di pazienti emicranici, veniva riscontrata una riduzione d'ampiezza nei pazienti sottoposti a trattamento. Questa azione risultava altresì associata ad una migliore risposta clinica al trattamento profilattico (Diener et al. 1989). Pertanto, si potrebbe ipotizzare che i  $\beta$ -bloccanti abbiano un significativo effetto sull'eccitabilità del sistema visivo in pazienti affetti da emicrania. Il trattamento con propranololo è in grado inoltre di inibire la CSD nei topi, senza alterare il flusso ematico cerebrale regionale e la pressione arteriosa sistemica (Richter et al., 2005). Infine, è stato ipotizzato che i  $\beta$ -bloccanti esercitino alcuni dei loro effetti terapeutici in pazienti emicranici attraverso l'azione a livello del nucleo talamico ventroposteromediale, che rappresenta una stazione di ritrasmissione delle informazioni sensitive trigeminali alla corteccia somatosensitiva primaria (Kaube e Goadsby, 1994).

I calcio-antagonisti sono stati originariamente impiegati nel trattamento dell'ipertensione arteriosa e solo successivamente il loro utilizzo è stato proposto ed esteso nella profilassi dell'emicrania. Il principale meccanismo d'azione, condiviso da tutti i calcio-antagonisti, consiste nel blocco dei canali del calcio di tipo L (Triggle, 2006) che sono stati identificati anche a livello del ganglio trigeminale. Questi canali sono coinvolti nei cambiamenti sinaptici a lungo termine che si verificano nel nucleo trigeminale (Guido et al., 2001). In un modello sperimentale di infiammazione neurogenica, il blocco dei canali del calcio di tipo L era in grado di attenuare la vasodilatazione durale (Akerman et al., 2003). La flunarizina ad un dosaggio di 5-10 mg al giorno viene comunemente utilizzata nella terapia preventiva dell'emicrania (Reveiz-Herault et al., 2003). Sebbene il meccanismo d'azione di questo farmaco nella profilassi dell'emicrania non sia ancora stato completamente compreso, è stato ipotizzato che possa agire contro l'ipossia cerebrale attraverso l'inibizione della contrazione della muscolatura vascolare. E' stato inoltre suggerito un possibile blocco del rilascio di serotonina da parte della flunarizina (Iqbal e Vanhoutte, 1988). La flunarizina potrebbe inoltre esercitare il suo effetto antiemicranico attraverso una riduzione dell'attività dell'ossido nitrico sintetasi (Ayajiki et al., 1997). Secondo tale ipotesi, l'ossido nitrico rivestirebbe un ruolo patogenetico cruciale durante gli attacchi di emicrania (Sarchielli et al., 2000). La flunarizina inoltre, agisce da potente

*scavenger* di radicali liberi a livello mitocondriale (Takei et al., 1994). Dopo trattamento con flunarizina, infatti, è stata osservata una significativa riduzione dei prodotti di perossidazione lipidica in soggetti affetti da emicrania (Ciancarelli et al., 2004). Questo effetto potrebbe attenuare lo stress ossidativo a livello sistemico e proteggere l'endotelio cerebrale contro eventuali danni ossidativi (Sparaco et al., 2006). Un ridotto flusso di ioni calcio è stato ipotizzato alla base dell'inibizione del rilascio di glutammato e dell'attivazione del recettore NMDA a un pH fisiologico. La flunarizina potrebbe inoltre interferire con il sistema dopaminergico, cosa che potrebbe spiegare i sintomi extrapiramidali che si verificano in alcuni pazienti dopo trattamento. Rimane tuttavia da chiarire in che maniera la dopamina sia coinvolta nell'azione antiemicranica esercitata dalla flunarizina.

Alcuni farmaci antiepilettici si sono dimostrati efficaci nel trattamento preventivo dell'emicrania (Cutrer, 2001; Calabresi et al., 2007). Il razionale per il loro impiego terapeutico consiste nell'ipotesi che l'emicrania e l'epilessia condividano alcuni dei meccanismi patogenetici (Calabresi et al., 2007). Una sbilanciata attività tra la trasmissione eccitatoria glutammatergica e quella inibitoria GABAergica è stata postulata in entrambe queste due condizioni. Similarmente, un'abnorme attivazione dei canali ionici voltaggio-dipendenti come quelli del sodio o del calcio è stata implicata sia nell'emicrania che nell'epilessia (Pietrobon, 2005). Sebbene sia noto come i farmaci antiepilettici esercitino la loro azione anticonvulsiva agendo a livello della maggior parte di questi *step* patogenetici, rimane sconosciuta la ragione per la quale solo alcuni di questi farmaci siano efficaci nella profilassi dell'emicrania. Si potrebbe pensare che quei farmaci la cui farmacodinamica comprenda molteplici meccanismi d'azione, come il valproato di sodio, il topiramato o il gabapentin costituiscano i migliori candidati per la terapia preventiva dell'emicrania (Costa et al, 2006). E infatti, una chiara evidenza scientifica verso un'efficace azione preventiva è stata accumulata sia per il valproato che per il topiramato. Per il gabapentin e la lamotrigina i dati clinici circa la loro efficacia nel trattamento preventivo dell'emicrania restano ancora da chiarire. Al contrario, quei farmaci antiepilettici che agiscono principalmente attraverso un singolo meccanismo di azione sembrano risultare meno efficaci

nella terapia preventiva dell'emicrania. Così per la fenitoina, la oxcarbamazepina, il levetiracetam ed altri farmaci antiepilettici esiste una scarsa o nessuna evidenza circa la loro efficacia nella prevenzione degli attacchi di emicrania (Silberstein et al., 2008).

L'efficacia dei farmaci antiepilettici nella profilassi dell'emicrania sembra essere mediata dall'interazione con molteplici siti di azione. Questi farmaci, infatti, agiscono a livello di diversi siti molecolari a livello cerebrale, modificando l'attività di canali ionici voltaggio-dipendenti e ligando-dipendenti (Costa et al., 2004). Questa interazione a più livelli sembrerebbe ridurre l'abnorme eccitabilità cerebrale e proteggere i neuroni vulnerabili in condizioni di elevata richiesta energetica, come l'iperattività neuronale o il deficit metabolico (Calabresi et al., 2000). I farmaci antiepilettici agiscono modificando l'eccitabilità neuronale attraverso gli effetti sui canali del sodio voltaggio-dipendenti. Il ruolo cruciale dei canali del sodio nella patogenesi dell'emicrania emiplegica familiare è stato sostenuto da studi genetici. Tuttavia, questa scoperta non implica necessariamente che un simile meccanismo sia coinvolto nell'emicrania. D'altra parte, recenti modelli sperimentali hanno mostrato un ruolo critico dei canali del sodio anche nella regolazione della CSD, sostenendo la possibilità di un'abnorme attivazione di questi canali anche nell'emicrania (Akerman et al., 2008). Poiché questi canali rappresentano il *target* di diversi farmaci antiepilettici, si potrebbe sostenere che l'impiego di questa classe di farmaci sia in grado di limitare l'ipereccitabilità neuronale implicata anche nell'emicrania sporadica. Inoltre, in pazienti emicranici la redistribuzione e la diversa composizione di alterate unità del canale del sodio potrebbero predisporre i neuroni del sistema trigeminale ad attivarsi spontaneamente o a scaricare a frequenze inappropriatamente elevate. Pertanto è verosimile ipotizzare che uno dei maggiori meccanismi responsabili dell'azione terapeutica degli antiepilettici nell'emicrania sia rappresentato dall'inibizione dell'abnorme conduttanza al sodio indotta dall'infiammazione neurogenica. La modulazione sulla conduttanza di membrana a correnti rapide del sodio renderebbe conto, almeno in parte, dell'efficacia dei diversi farmaci antiepilettici nell'epilessia. In aggiunta agli effetti sulla corrente rapida del sodio, gli antiepilettici potrebbero inoltre agire bloccando la corrente persistente di sodio

(Rogawski e Loscher, 2004). Questa corrente riveste un ruolo chiave nella regolazione dell'eccitabilità prossima alla soglia di scarica. Alcuni antiepilettici, dimostratisi efficaci nel trattamento preventivo dell'emicrania sembrano modulare non a caso proprio questa corrente. Il valproato di sodio e il topiramato inibiscono la corrente persistente di sodio a concentrazioni inferiori rispetto a quelle necessarie per bloccare la corrente rapida di sodio (Taverna et al., 1999). Un ulteriore bersaglio dei farmaci antiepilettici nella terapia preventiva dell'emicrania può essere costituito dall'abnorme attività neuronale dei canali del calcio (Knight et al., 2002). La PAG rappresenta la principale stazione di modulazione della nocicezione craniovascolare e, attraverso le sue proiezioni discendenti di controllo sul dolore, contribuisce alla fisiopatologia dell'emicrania (Welch et al., 2001). I canali del calcio di tipo P/Q nella PAG modulano la nocicezione trigeminale, ed una disfunzione di tali canali è stata implicata nella fisiopatologia dell'emicrania (Knight et al., 2002). Gli antiepilettici agiscono non solo sui canali voltaggio-dipendenti ma anche su quelli ligando-dipendenti. Tra i diversi neurotrasmettitori, il glutammato costituisce un ligando recettoriale piuttosto ubiquitario. Sia recettori ionotropici che metabotropici sono presenti in diverse aree cerebrali implicate nella fisiopatologia dell'emicrania e, per tale ragione, la modulazione sui recettori del glutammato può essere considerata uno dei principali bersagli dei farmaci antiepilettici nella profilassi dell'emicrania. Inoltre, la modulazione della trasmissione mediata dal GABA è stata considerata uno dei meccanismi classici sottostanti l'azione di farmaci antiepilettici responsabile dell'effetto antiemicranico.

L'efficacia del topiramato nella terapia preventiva dell'emicrania è stata ampiamente dimostrata da recenti studi condotti con disegno a doppio-cieco (Brandes et al., 2004a; Silberstein et al., 2004), evidenziando una significativa riduzione nella frequenza e nell'intensità degli attacchi. I principali effetti collaterali sono rappresentati da parestesie a tipo formicolio, nausea, sensazione di affaticamento e anoressia. Il topiramato agirebbe attraverso l'inibizione dei canali del sodio voltaggio-dipendenti e di quelli per il calcio di tipo L. Inoltre è stato recentemente osservato come il topiramato eserciti una più selettiva e potente inibizione a livello dei canali per il calcio localizzati nei neuroni della PAG

rispetto alle cellule piramidali della corteccia cerebrale (Martella et al., 2008), sostenendo l'ipotesi di un coinvolgimento critico di quest'area del tronco encefalico nell'azione terapeutica di questo farmaco nell'emicrania. Il topiramato inibisce inoltre le correnti sinaptiche eccitatorie mediate dai recettori AMPA (Gryder e Rogawski, 2003). In particolare è stato recentemente dimostrato come il topiramato inibisca in maniera selettiva la risposta post-sinaptica mediata dai recettori kainato per il glutammato (GluR5) (Kaminski et al., 2004). Il topiramato è inoltre in grado di ridurre il *firing* neuronale nel complesso trigeminovascolare attraverso un meccanismo GABA-mediato. Tale farmaco sembrerebbe potenziare il flusso di cloro attraverso i recettori GABA<sub>A</sub> (White et al., 2000). E' interessante osservare come tale farmaco aumenti le concentrazioni cerebrali di GABA e potenzi indirettamente la trasmissione mediata dal GABA nei soggetti sani (Kuzniecky et al., 1998). Recentemente, è stato documentato come il trattamento cronico con topiramato sia in grado di bloccare il fenomeno della CSD indotto in vivo (Ayata et al., 2006). Sebbene la modulazione esercitata a livello dei canali ionici voltaggio e ligando-dipendenti possa essere in parte responsabile di quest'azione, gli effetti a lungo termine sulla regolazione genica da parte di questo antiepilettico devono essere presi in considerazione nella spiegazione di tale fenomeno. È stato inoltre osservato in un modello animale come il topiramato sia in grado di attenuare la vasodilatazione durale mediante l'inibizione del rilascio del peptide associato al gene per la calcitonina (CGRP) da parte dei neuroni trigeminali pregangliari; parallelamente è stato documentato come questo farmaco non sia capace invece di agire a livello post-sinaptico, sui vasi sanguigni stessi, dal momento che la dilatazione CGRP-indotta non veniva attenuata (Akerman e Goadsby, 2005). Non si conosce attualmente l'esatto meccanismo antiemicranico del topiramato; è verosimile ipotizzare che i potenziali meccanismi d'azione possano influenzare l'attività trigemino-vascolare. Questi, sinteticamente sono rappresentati da una modulazione dei canali ionici del sodio e del calcio voltaggio-dipendenti, da un blocco della trasmissione glutammatergica ed un potenziamento della inibizione GABAergica ed infine da una inibizione di alcuni isoenzimi dell'anidrasi carbonica (Shank et al., 2000).

## Note di Ultrasonografia. Doppler transcranico

Gli ultrasuoni sono suoni con una frequenza superiore a 20.000 cicli al secondo, al di sopra della soglia di udibilità. Nell'ecografia il fascio di ultrasuoni generato dal trasduttore viene riflesso in maniera diversa a seconda degli ostacoli che incontra e viene tradotto in segnali elettrici che danno luogo all'immagine. (Bartels E, 1998). Quando gli elementi responsabili dell'eco di ritorno sono provvisti di una componente di velocità lungo l'asse del fascio ultrasonoro, come gli eritrociti, l'onda riflessa subisce uno spostamento in frequenza proporzionale alla velocità del flusso ematico e all'angolo di incidenza del fascio di ultrasuoni sul vaso. Questo fenomeno è comunemente noto come "effetto Doppler" dal nome del fisico austriaco che per primo lo descrisse nel 1843, è caratteristico di tutti i fenomeni ondulatori e si manifesta per tutte le frequenze del suono, comprese quelle dello spettro non udibile come gli ultrasuoni. Il "*Doppler shift*" è la sua traduzione matematica attraverso la formula:

$$\Delta F = 2F \bullet (V \bullet \cos \alpha)/C$$

Dove  $\Delta F$  corrisponde alla variazione di frequenza;  $F$  alla frequenza dell'ultrasuono trasmesso;  $V$  alla velocità reale del flusso ematico;  $\alpha$  all'angolo tra il fascio di ultrasuoni e la direzione del flusso ematico;  $C$  alla velocità di propagazione degli ultrasuoni nel tessuto. Da questa equazione risulta evidente l'importanza dell'angolo  $\alpha$  in quanto con un angolo di circa  $0^\circ$  e cioè col fascio di ultrasuoni pressoché parallelo al flusso ematico nel vaso, si avrà la massima velocità ( $\cos 0 = 1$ , quindi il massimo spostamento di frequenza). Al contrario con il fascio di ultrasuoni perpendicolare al flusso ematico e cioè  $\alpha = 90^\circ$ , non si avrà effetto Doppler ( $\cos 90 = 0$ , quindi spostamento di frequenza nullo). Poiché con angoli compresi tra  $0^\circ$  e  $30^\circ$  si hanno differenze minime ( $\cos 30^\circ = 0.866$ ) si deve avere cura di ottenere un angolo di incidenza il più possibile vicino a  $0$  o almeno inferiore a  $30^\circ$  (AbuRahma et al., 2006).

Per le frequenze utilizzate, dell'ordine da 2 a 8 MegaHertz (MHz), la differenza in frequenza tra il fascio emesso e quello riflesso varia da 0 a 5000 Hz in ragione delle velocità circolatorie abituali; tale frequenza è situata nello spettro



dell'udibile e può essere raccolta da un amplificatore. Le apparecchiature basate sull'impiego delle tecniche Doppler consentono di ottenere informazioni in maniera non invasiva sulla direzione, il verso e la velocità del flusso ematico, sotto forma di tracciati, immagini e/o segnali uditivi. Esistono due principali sistemi Doppler: il Doppler continuo che misura la velocità media del flusso ematico attraverso l'arteria o la vena sotto la sonda ed il Doppler pulsato che è invece impiegato per misurare la velocità del sangue in piccoli volumi in specifici siti selezionati nel lume vasale. Le curve Doppler vengono analizzate usando l'analisi spettrale della trasformazione veloce di Fourier per individuare la frequenza del picco e l'ampiezza dello spettro (von Reutern et al., 1993).

Uno dei maggiori progressi nell'ambito della valutazione delle lesioni vascolari è stata l'introduzione del Doppler transcranico (TCD), che permette lo studio delle arterie intracraniche. I normali apparecchi ecografici per lo studio delle arterie extracraniche utilizzano sonde a frequenze variabili da 3 a 10 MHz, frequenze, queste, non in grado di attraversare l'osso in maniera sufficiente da riflettere il segnale dalle arterie intracraniche. Si possono tuttavia ottenere segnali dall'arteria cerebrale media (ACM) e dall'arteria cerebrale anteriore (ACA), impiegando una sonda a 2 MHz diretta verso l'interno del cranio dall'osso temporale appena sopra l'arcata zigomatica (Aaslid, 1986) (Figura 2).

Grazie allo sviluppo di questa tecnica ultrasonografica, nel 1982 Aaslid, Markwalder e Nornes pubblicarono il primo studio sull'impiego del TCD in individui sani, stabilendo le basi della tecnica di esplorazione che ancora oggi vengono utilizzate nella pratica clinica. L'identificazione dei differenti segnali acustici con le rispettive arterie intracraniche dipendeva dalla finestra acustica utilizzata, dall'inclinazione della sonda, dal tracciato del segmento arterioso e dalla risposta alle manovre di compressione delle arterie extracraniche (Aaslid et al., 1982). Si utilizzano tre distinte finestre acustiche per il posizionamento della sonda, sfruttando i naturali forami del cranio o le regioni di tessuto molle. La finestra temporale è utilizzata per visualizzare l'ACM e i suoi rami principali, l'ACA prossimale e la biforcazione dell'arteria carotide interna, così come le arterie cerebrali posteriori. La finestra transorbitaria è usata per lo studio del sifone carotideo e delle arterie oftalmiche. La finestra suboccipitale, attraverso il

forame magno, permette la registrazione delle frequenze dalle arterie vertebrali intracraniche e dalla porzione prossimale dell'arteria basilare (Caplan et al., 1990; Bartels, 1998).

Esistono diversi tipi di Doppler per la valutazione del flusso ematico cerebrale. Gli apparecchi Doppler ad onda continua (*Continuous Wave*: CW) possono emettere dalle basse alle alte frequenze (2MHz-8MHz) e sono caratterizzati dalla consistenza nella sonda di due cristalli distinti, uno emittente e l'altro ricevente, dall'insonazione di tutte le interfacce vascolari incontrate nell'intero spessore di penetrazione del treno di ultrasuoni e dalla modalità continua d'emissione. Gli apparecchi Doppler ad onda pulsata (*Pulsed Wave*: PW) emettono generalmente ultrasuoni a bassa frequenza (2 MHz) attraverso un unico cristallo che ha contemporaneamente la funzione di emittente e di ricevente, consentono l'insonazione di interfacce vascolari situate in volumi di prelievo di piccole dimensioni e soprattutto a profondità note e programmabili. La maggioranza degli apparecchi può registrare su grafico le variazioni di velocità tradotte dalle variazioni di frequenza riconoscendo il senso del flusso come istogramma positivo quando diretto verso la sonda e negativo quando se ne allontana. Per mantenere la posizione delle sonde, possono essere usati dei caschetti o delle fasce apposite, facilitando il monitoraggio delle arterie nel tempo. Si possono inoltre iniettare per via endovenosa soluzioni contenenti microbolle per ottenere un potenziamento da contrasto del segnale ecografico transcranico. Il contrasto migliora la capacità diagnostica dell'ecografia transcranica (Delcker e Turowski, 1997). L'interpretazione dei risultati del TCD dipende dall'integrazione delle informazioni ecografiche extracraniche ed intracraniche e dallo studio di tutte le maggiori arterie intracraniche a differenti profondità. Lo studio con TCD consente l'identificazione di stenosi a livello delle principali arterie della base del cranio, la valutazione della riserva emodinamica cerebrale, la diagnosi e il monitoraggio del vasospasmo cerebrale nelle emorragie subaracnoidee, lo studio indiretto della pressione intracranica, la diagnosi di morte cerebrale ed altre diverse applicazioni. Senza dubbio il peso più importante lo riveste nella fase acuta dell'ictus, dove permette di valutare in maniera rapida e non invasiva lo stato della circolazione

cerebrale a letto del paziente e di monitorizzare in modo continuo la risposta al trattamento fibrinolitico (Kaps et al., 1990; Demchuk et al., 2000) .

## Vasoreattività cerebrale

La vasoreattività cerebrale descrive la capacità della circolazione cerebrale a rispondere a stimoli vasomotori. I cambiamenti del flusso ematico cerebrale in risposta a tali stimoli possono essere documentati dal Doppler transcranico (TCD). Uno dei stimoli chimici più spesso utilizzati nello studio della capacità vasomotoria cerebrale è comunemente rappresentato dall'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>). La vasoreattività cerebrale alla CO<sub>2</sub> viene agevolmente indagata misurando i cambiamenti nei valori di velocità media delle ACM mediante sonografia Doppler transcranica. Tale risposta vasomotoria rientra nei meccanismi di autoregolazione cerebrale ed esprime la capacità vasodilatatoria delle arterie intracraniche e il conseguente aumento del flusso ematico cerebrale in risposta a un aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub>.

In condizioni normali, la quantità di sangue che arriva all'encefalo nell'unità di tempo (FEC-flusso ematico cerebrale) è circa di un litro al minuto, 1/5 dell'intera gittata sistolica. Una delle caratteristiche del FEC è di rimanere costante nel tempo, indipendentemente dall'attività cerebrale, cosa che permette di definire una relazione lineare tra il flusso e i valori di velocità delle arterie intracraniche (ottenibili mediante TCD) . Prendendo in considerazione la legge di Hagen-Poiseuille in un vaso rigido:

$$F = P \cdot \pi \cdot r^4 / 8 \cdot \eta \cdot l \text{ (ml/min)}$$

dove  $r$  = raggio del tubo,  $l$  = lunghezza del vaso,  $P$  = differenza tra la pressione al principio e alla fine del vaso e  $\eta$  = la viscosità del fluido; e considerando la relazione tra flusso e velocità, data da:

$$F = v \cdot \pi \cdot r^2$$

si ricava, combinando le due precedenti formule:

$$v = P \cdot r^2 / 8 \cdot \eta \cdot l$$

Si può dunque osservare come il flusso dipenda solo dalla velocità del vaso e dal quadrato del raggio del vaso stesso, mentre la velocità dalla viscosità del sangue, dal quadrato del raggio del vaso e dalla pressione dello stesso.

In condizioni fisiologiche, il flusso sanguigno rimane costante grazie ad un processo di regolazione che rende possibile il variare del flusso ematico delle arterie intracraniche al variare della resistenza dei vasi. Il meccanismo dell'autoregolazione cerebrale consiste pertanto nella capacità di mantenere il flusso ematico cerebrale relativamente costante in condizioni di variabilità della pressione arteriosa sistemica o della pressione di perfusione cerebrale, assicurando, pertanto, un flusso ematico adeguato alla richiesta metabolica cerebrale. Questo fenomeno deriva dall'interazione di fattori neurogeni, miogenici e metabolici. La regolazione miogenica è implicata nel mantenimento costante del flusso ematico cerebrale al variare della pressione arteriosa sistemica. Variazioni del gradiente pressorio trasmurale sono responsabili della vasocostrizione o della vasodilatazione delle arterie di piccolo calibro e delle arteriole cerebrali. Variazioni pressorie all'interno del vaso, agendo in maniera meccanica sulle pareti vasali, distendono le fibre muscolari lisce della tonaca muscolare, determinando pertanto depolarizzazione della membrana cellulare e contrazione della cellula muscolare. Al contrario, un incremento del flusso all'interno del vaso, aumentando la forza radente sulle cellule endoteliali, determinerà il rilassamento della cellula muscolare. Fattori biochimici endoteliali sembrano inoltre svolgere un ruolo regolatore sul tono muscolare vasale, contribuendo così al meccanismo miogenico dell'autoregolazione. L'aumento di flusso all'interno del vaso, determina infatti il rilascio di ossido nitrico di derivazione endoteliale, responsabile della sintesi del guanosin-monofosfato ciclico (GMPc), mediatore chimico del rilassamento della cellula muscolare. Il rilasciamento muscolare flusso-indotto permette di assecondare la necessità di aumento di flusso locale.

La regolazione metabolica si esplica mediante una variazione delle concentrazioni di ioni  $H^+$  e  $K^+$  nell'interstizio extracellulare prossimo alle pareti arteriolari. Si determinerà pertanto una vasodilatazione ogni qualvolta si avrà una diminuzione del pH ed una vasocostrizione nel caso opposto. Secondo il meccanismo metabolico, le variazioni di disponibilità dei substrati metabolici a livello tissutale sono responsabili di modificazioni compensatorie locali, poiché esiste in condizioni fisiologiche una relazione diretta tra valori di flusso e il metabolismo cerebrale. L'aumento di attività neuronale produce in condizioni fisiologiche un

incremento della produzione e liberazione di glutammato, adenosin-trifosfato (ATP) e un aumento dell'attività della cicloossigenasi 2. Quest'ultima determina un incremento di prostaglandine nello spazio extracellulare, determinando vasodilatazione. Il glutammato, invece, oltre ad incrementare la sintesi di NO, determina attraverso il legame ai suoi recettori metabotropici, l'attivazione della via dell'inositolo trifosfato con liberazione intracitoplasmatica di calcio e attivazione dei canali del potassio calcio-dipendenti. La conseguente iperpolarizzazione della membrana cellulare, causata dalla fuoriuscita di ioni potassio sarà responsabile della ridotta contrattilità della cellula muscolare stessa.

La regolazione neurogena si avvale di una componente estrinseca rappresentata dall'innervazione simpatica e parasimpatica delle pareti vasali delle arterie extra ed intracerebrali, e di una intrinseca proveniente dai nuclei sottocorticali e dagli interneuroni, principalmente di tipo colinergico. Recettori muscarinici di tipo M5 presenti a livello delle cellule endoteliali e muscolari delle pareti vasali, nonché a livello delle membrane delle cellule astrocitarie, sembrano mediare la risposta di vasodilatazione. Tali strutture riceverebbero fibre nervose colinergiche a partenza dal nucleo basale di Meynert, noradrenergiche a partenza dal *locus coeruleus* e serotoninergiche provenienti dal nucleo del rafe (queste ultime responsabili di vasocostrizione). Interneuroni GABAergici, inoltre, attivi sul controllo dei piccoli vasi interverrebbero attraverso la produzione di mediatori vasodilatatori o vasocostrittori nella modulazione del flusso ematico locale. Il meccanismo neurogeno di regolazione del flusso ematico cerebrale prevedrebbe l'integrazione di risposte vegetative a variazioni della pressione sistemica con risposte locali dettate dalla differente attività metabolica neuronale.

Il meccanismo che permette di mantenere il flusso entro valori relativamente costanti al variare della pressione di perfusione è rappresentato principalmente da variazioni di resistenze vascolari locali secondo la formula:

$$\text{Flusso ematico regionale (rCBF)} = \frac{\text{Pressione di perfusione cerebrale (CPP)}}{\text{Resistenze cerebrovascolari regionali (rCVR)}}$$

Quindi, in condizioni fisiologiche, un definito processo di regolazione rende possibile il variare del flusso ematico cerebrale al variare della resistenza dei

piccoli vasi. Pertanto, una ridotta pressione di perfusione cerebrale verrà immediatamente compensata da una conseguente riduzione delle resistenze vascolari locali, responsabili di una vasodilatazione distrettuale, con conseguente aumento del volume ematico cerebrale (CBV), al fine di mantenere costanti il CBF e il consumo metabolico di ossigeno. Viceversa, ad un aumento della pressione di perfusione, si determina un incremento delle resistenze vascolari cerebrali, vale a dire una vasocostrizione. L'autoregolazione cerebrale possiede limiti entro i quali il flusso rimane relativamente costante. Tali limiti vengono definiti approssimativamente intorno ai valori di PA media tra 60 e 140 mmHg. I limiti dell'autoregolazione cerebrale possono essere modificati in maniera temporanea o permanente da diversi fattori intrinseci ed estrinseci come l'ipertensione sistemica, l'attività del sistema simpatico, la pressione parziale di CO<sub>2</sub>, l'ipertensione endocranica e alcuni agenti farmacologici. Al di fuori di questi limiti, il flusso diventa passivamente dipendente dalla pressione di perfusione, provocando ipossia se questa si riduce o edema se aumenta.

Il fenomeno dell'autoregolazione cerebrale viene comunemente studiato mediante la misurazione della reattività vasomotoria cerebrale che indica la capacità del circolo cerebrale di reagire, riducendo le proprie resistenze, ad uno stimolo vasodilatatorio noto. Possiamo in tal modo quantificare la riserva vasomotoria, cioè la vasodilatazione in termini di incremento percentuale della velocità di flusso dopo uno stimolo e rispetto ad una condizione di base. Normalmente, in soggetti sani, è possibile ottenere un cospicuo incremento della velocità media di flusso (MFV) dopo uno stimolo quale l'ipercapnia. I principali stimoli vasodilatatori utilizzati per l'esecuzione del test di reattività vasomotoria cerebrale mediante Doppler transcranico sono costituiti dall'ipercapnia, mediante test di apnea ed il test di reattività alla CO<sub>2</sub>, e dall'acetazolamide.

Nel *breath-holding* test lo stimolo vasodilatatorio è costituito dall'ipercapnia generata dopo alcuni secondi di apnea. Dopo un periodo di normoventilazione, si invita il paziente a trattenere il respiro per almeno 30 secondi. E' importante che l'apnea inizi con un normale respiro per evitare il fenomeno di Valsalva e quindi l'aumento di pressione endocranica. Attraverso un monitoraggio bilaterale mediante TCD, vengono misurati i valori di velocità nelle arterie cerebrali medie

dei due lati in condizioni di riposo e al termine della prova. Durante l'esperimento vengono monitorizzate la pCO<sub>2</sub> mediante un capnometro, la pressione arteriosa (PA) e la frequenza cardiaca (FC). Attraverso il *breath-holding index* (BHI) viene valutata la reattività vasomotoria cerebrale all'ipercapnia. Questo indice si ottiene dividendo l'incremento percentuale della velocità di flusso che avviene durante il BH per il periodo di tempo (secondi) in cui il soggetto riesce a trattenere il respiro dopo una normale inspirazione:

$$[(MFV_{BH} - MFV_{base}) / MFV_{base}] \times 100 / \text{secondi di BH}]$$

Il vantaggio del BH è quello di essere una prova ben tollerata, non invasiva, di facile esecuzione ed universalmente accettata (Markus e Harrison 1992; Silvestrini et al., 1996). Tuttavia per alcuni autori l'insufficiente modificazione della pCO<sub>2</sub> (un'apnea prolungata provoca infatti un incremento di soli 3-4 mmHg di pCO<sub>2</sub>), la necessaria collaborazione del paziente e la non perfetta riproducibilità della prova rappresentano i maggiori problemi nell'utilizzo di questo test.

Nel test di reattività alla CO<sub>2</sub> si impiega l'inalazione di miscele di CO<sub>2</sub> ad una concentrazione che varia dal 3 al 7%. Attraverso la registrazione bilaterale con TCD, vengono misurati i valori di velocità media nelle arterie cerebrali medie dei due lati in condizioni di riposo e al termine della prova. Nel corso dell'esperimento viene inoltre misurata la pCO<sub>2</sub> mediante un capnometro, e monitorizzate la PA e la FC. Ad ogni *steady state* il valore delle MFV viene confrontato con il valore della CO<sub>2</sub> di fine espirazione. La risposta vasomotoria cerebrale (VMR) alla CO<sub>2</sub> viene calcolata come l'incremento percentuale della MFV misurata dopo 90 secondi di inalazione della miscela di CO<sub>2</sub> rispetto alla condizione di riposo in accordo alla formula:

$$[(MFV_{CO_2} - MFV_{base}) / MFV_{CO_2}] \times 100.$$

Il test alla CO<sub>2</sub> costituisce indubbiamente una metodica semplice, non invasiva, affidabile e ben riproducibile (Ringelstein et al., 1988).

Il test all'acetazolamide consiste infine in un test farmacologico che comporta l'infusione endovenosa di 500 mg o 2 g di acetazolamide, inibitore dell'anidasi



carbonica, enzima che catalizza sia la dissociazione che la formazione di acido carbonico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ); l'inibizione di tale enzima è responsabile di una marcata acidosi cerebrale. La riduzione del pH cerebrale così ottenuta provoca vasodilatazione. Gli effetti si esplicano entro il primo minuto dall'infusione e terminano dopo 30 minuti, raggiungendo il *plateau* a 15 minuti. Il farmaco nella sua formulazione endovena non è tuttavia disponibile in Italia. Rispetto alle due precedenti tecniche, risulta una metodica invasiva, di maggiore durata e con importanti effetti collaterali. (Ringelstein et al., 1992).

## Obiettivi dello Studio

La finalità del presente studio è quella di verificare due distinte ipotesi:

- 1) confermare una significativa differenza nella risposta vasomotoria cerebrale all'ipercapnia valutata mediante Doppler transcranico durante il periodo interictale in soggetti emicranici con e senz'aura rispetto a controlli sani;
- 2) documentare se un farmaco utilizzato nella terapia preventiva dell'emicrania, come il topiramato, con un meccanismo di azione non diretto sul sistema vascolare sia in grado di modulare la vasoreattività cerebrale nello stesso gruppo di soggetti emicranici.

## Materiali e Metodi

Nel presente studio sono stati arruolati tutti i pazienti con diagnosi di emicrania con e senz'aura definita sulla base dei criteri dell'*International Classification of Headache Disorders* (2004) afferiti presso il Centro per la cura e la diagnosi delle Cefalee della Neurologia A del Policlinico Universitario "Umberto I" nel periodo compreso da Settembre 2010 ad Ottobre 2011.

Tutti i soggetti arruolati hanno dato il loro consenso informato secondo quanto stabilito dalla Dichiarazione di Helsinki. I soggetti di controllo, senza storia di emicrania o altre cefalee ricorrenti, né alcuna patologia internistica di rilievo, sono stati selezionati come comparabili per età e sesso rispetto ai pazienti. Requisito essenziale era inoltre rappresentato dall'assenza di parenti di primo grado affetti da cefalea. I pazienti che presentavano patologie mediche generiche, neurologiche o psichiatriche sono stati esclusi dallo studio, come pure i pazienti sottoposti in passato a trattamento di prevenzione per gli attacchi di emicrania. Sono stati infine esclusi tutti i pazienti che assumevano farmaci sintomatici in maniera regolare, e comunque tutti coloro che avessero assunto farmaci a meno di 48 ore di distanza dalla registrazione dell'esame. Al momento dell'esame nessuno dei soggetti arruolati assumeva alcuna terapia farmacologica, inclusa quella ormonale. Tutti i pazienti arruolati e i soggetti di controllo erano non fumatori.

Dopo essere stati visitati in ambulatorio ed inquadrati in una definita diagnosi clinica, ai pazienti è stato chiesto di tornare a visita a un mese di distanza, avendo cura di compilare un diario delle cefalee, al fine di poter definire per ogni singolo paziente la frequenza degli attacchi, la durata degli stessi, l'intensità delle crisi valutata mediante Numeric Rating Scale (NRS), la risposta alla terapia sintomatica, misurata in termini di *pain free* (tempo medio entro il quale il paziente presenta completo sollievo dal dolore) e *pain relief* (tempo entro il quale il paziente presenta una riduzione della cefalea del 50% circa).

Sono stati quindi selezionati solamente i soggetti che necessitavano di un trattamento preventivo per la cefalea, ovvero coloro che dopo revisione del diario clinico presentavano almeno 3 attacchi al mese di natura invalidante, della durata di più di 3 giorni. E' stata quindi prescritta la terapia preventiva con Topiramato

ad un dosaggio di 100 mg/die, raggiunto nell'arco di 4 settimane. I pazienti in terapia preventiva sono stati richiamati a due mesi circa dall'inizio della stessa.

Lo studio, interamente svolto presso il Dipartimento di Scienze Neurologiche, ha previsto il monitoraggio presso il laboratorio di Neurosonologia mediante metodica transcranica delle arterie cerebrali medie con la registrazione delle relative variazioni di velocità di flusso a differenti concentrazioni di CO<sub>2</sub>. I valori espiratori di CO<sub>2</sub> sono stati controllati durante tutta la durata degli esperimenti mediante un capnometro (Capnodig; Drager, Lubeck, Germania). La pressione arteriosa e la frequenza cardiaca sono state rilevate all'inizio e al termine di ciascun esperimento. Le misurazioni sono avvenute in una stanza silenziosa, con il soggetto sdraiato in posizione supina, in assenza di stimolazioni visive o sonore. Durante gli esperimenti in ciascun soggetto è stato eseguito mediante TCD un monitoraggio bilaterale della velocità media di flusso (MFV) a livello dell'arteria cerebrale media, insonata ad una profondità di  $50 \pm 4$  mm. Le sonde sono state posizionate in corrispondenza della finestra temporale bilateralmente e sono state fissate con un caschetto. Quando il segnale diventava stabile, venivano registrati per un periodo di 60 secondi l'MFV e il valore di CO<sub>2</sub> di fine espirazione in condizioni basali durante inalazione di aria ambiente. L'ipercapnia è stata indotta mediante l'inalazione di una miscela di CO<sub>2</sub> al 7% ed aria per circa 90 secondi. Quando la velocità di flusso in arteria cerebrale media diventava stabile, veniva effettuata una registrazione per altri 30 secondi. Il massimo range di vasodilatazione era determinato attraverso la percentuale di incremento della velocità di flusso in arteria cerebrale media durante l'inalazione della miscela arricchita di CO<sub>2</sub> (Rossini et al., 2004).

Ciascun esame consisteva in tre fasi: un periodo iniziale di registrazione delle velocità a riposo della durata di 2 minuti, una seconda fase di inalazione della CO<sub>2</sub> della durata di 90 secondi, comprendente per ciascun paziente un periodo di 30 secondi nel quale la velocità dell'arteria cerebrale media diventava stabile (periodo di *plateau*), ed infine una terza fase di recupero della durata di 2 minuti. Ciascun esperimento è stato effettuato tre volte per ciascun paziente ad intervalli non inferiori ai 10 minuti. Per ogni soggetto è stata fatta la media dei valori ottenuti nei tre esperimenti. Quale parametro di vasoreattività cerebrale è stata

considerata la *vasomotor reactivity* (VMR) calcolata come l'incremento percentuale della velocità media dopo i 90 secondi di inalazione di miscela con CO<sub>2</sub> al 7% secondo la formula:

$$VMR = [(VCO_2 - V_{baseline}) / V_{baseline}] \times 100$$

dove V sta per la media dei valori di velocità dei periodi di plateau dopo inalazione di CO<sub>2</sub> (VCO<sub>2</sub>) e a riposo (V<sub>baseline</sub>).

E' stata effettuata una sessione di registrazione mediante metodica transcranica delle variazioni di velocità di flusso all'ipercapnia per ogni volontario sano e due sessioni per ogni paziente: prima (T0) e durante (T1) il trattamento preventivo. La registrazione a T1 è stata effettuata dopo due mesi circa dall'inizio della terapia preventiva. Ogni registrazione nei pazienti è stata effettuata nel periodo intercritico, ad almeno 48 ore di distanza dopo l'ultimo e prima del successivo attacco di emicrania.

## Analisi statistica

L'analisi statistica ha incluso una statistica descrittiva nella quale le variabili continue sono espresse come medie  $\pm$  SD o come valore mediano con l'intervallo e quelle categoriche sono riassunte in percentuale di frequenza. I confronti statistici tra i valori di velocità media a riposo e dopo inalazione di CO<sub>2</sub> e la reattività vasomotoria cerebrale per ciascun lato nei gruppi di pazienti con emicrania comune e con aura e nel gruppo di controllo sono stati effettuati mediante l'analisi parametrica fattoriale della varianza (ANOVA), utilizzando la correzione di Bonferroni come test *post hoc*. Prima di utilizzare l'analisi della varianza ad una via è stata verificata la distribuzione normale dei diversi dati nei tre gruppi di soggetti studiati. L'assunzione di normalità è stata testata mediante il test Shapiro-Wilk. Le differenze tra i lati all'interno di ogni gruppo di soggetti sono state analizzate con il test t di Student per gruppi appaiati. Il confronto tra i valori di velocità media delle arterie cerebrali medie nei gruppi di emicranici con e senz'aura ai tempi T0 e T1 e i valori di vasoreattività cerebrale prima e durante trattamento sono stati effettuati utilizzando il test t di Student per dati appaiati. In tutte le analisi un livello di probabilità  $< 0.05$  è stato assunto come statisticamente significativo. L'analisi statistica è stata effettuata impiegando il programma SPSS versione 12.0 (SPSS Inc).

## Risultati

Dal primo Settembre 2010 al primo Ottobre 2011 un totale di 39 soggetti è stato arruolato nello studio. Di questi, 20 erano pazienti affetti da emicrania, rispettivamente 8 (F/M: 4/4) da emicrania con aura e 12 (F/M: 9/3) da emicrania senz'aura, mentre 19 (F/M: 10/9) erano soggetti di controllo. I soggetti di controllo presentavano un'età media di 30,26 anni  $\pm$  3,1; sostanzialmente sovrapponibile a quella dei pazienti affetti da emicrania (30 anni  $\pm$  7,41). Le caratteristiche demografiche dei soggetti studiati sono riassunte nella tabella 1. La frequenza media degli attacchi nei pazienti emicranici era di 6,1 attacchi al mese ( $\pm$  2,5) con una media di giorni di cefalea al mese pari a 10,6  $\pm$  3,7. Non sono state riscontrate ad una prima analisi differenze significative in termini di età, e sesso tra il gruppo di pazienti e quello di controllo. I valori di velocità media dell'arteria cerebrale media per ciascun lato al *baseline* così come le relative percentuali di vasoreattività cerebrale nei tre gruppi sono riportate nella tabella 2. I pazienti emicranici sono stati sottoposti all'indagine ad una distanza media di 6,5 ( $\pm$  3,3) giorni dall'ultimo attacco. L'analisi della varianza ad una via con correzione di Bonferroni non ha evidenziato significative differenze fra i valori di velocità media per ciascun lato nei tre gruppi oggetto di studio ( $p=0.2$ ), mentre sono risultati significativamente maggiori rispetto al gruppo di controllo i valori di vasoreattività cerebrale per ciascun lato tanto nei pazienti con emicrania comune che in quelli con aura ( $p<0.01$ ). Tra questi due gruppi, infine, non sono emerse differenze significative in termini di risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> ( $p=0.4$ ). Confrontando inoltre al tempo T1 i medesimi parametri nei due gruppi di pazienti trattati, sia per il lato destro che per quello sinistro è stata osservata una significativa riduzione dei valori di vasoreattività cerebrale rispetto ai valori basali ( $p<0.01$ ), mentre i valori di velocità media non risultavano modificati dopo trattamento preventivo ( $p= n.s.$ ). Non sono state rilevate differenze significative tra i valori di velocità delle arterie cerebrali medie dei due lati nei soggetti emicranici, con e senz'aura considerando il lato predominante del dolore. I 20 pazienti sottoposti a terapia preventiva hanno mostrato una significativa riduzione della frequenza degli attacchi ( $p<0.01$ ), con una media di giorni di cefalea al mese pari a 3,5  $\pm$  1,7.

## Discussione

Il presente studio mostra come nei pazienti affetti da emicrania ad alta frequenza, sia con aura che senz'aura, vi sia un'accentuata vasoreattività cerebrale ai cambiamenti di pressione parziale di CO<sub>2</sub>, valutata mediante metodica transcranica durante il periodo interictale. Il trattamento di profilassi con topiramato evidenzia, inoltre, nello stesso gruppo di pazienti una significativa riduzione della risposta vasomotoria cerebrale al medesimo stimolo metabolico. Il primo risultato del nostro studio sostiene l'ipotesi che nei pazienti emicranici ci sia un'alterazione dei meccanismi di autoregolazione cerebrale. La vasoreattività cerebrale alle modificazioni di pressione parziale di CO<sub>2</sub> descrive la capacità dei vasi intracranici di adattare il proprio calibro a livello arteriolo-capillare in risposta ad uno stimolo chimico, modificando in tal modo il flusso ematico cerebrale. La risposta vasomotoria cerebrale è regolata da fattori di ordine nervoso, miogenico e metabolico. Il controllo nervoso è rappresentato principalmente da efferenze simpatiche che regolano il calibro arteriolo-capillare. Sebbene il sistema nervoso simpatico non sembri influenzare in maniera diretta il flusso ematico cerebrale in condizioni fisiologiche, esso gioca un ruolo chiave quando i limiti dell'autoregolazione vengono oltrepassati. Una ridotta attività del sistema nervoso simpatico abbassa il limite inferiore del meccanismo di autoregolazione cerebrale, mentre un'accentuata attività dello stesso consente il mantenimento di un flusso ematico cerebrale costante al di sopra del limite superiore di pressione di perfusione. (Edvinsson et al., 1976). Già precedenti indagini effettuate mediante Doppler transcranico (TCD) hanno mostrato un'aumentata risposta vasomotoria cerebrale in pazienti affetti da emicrania con aura durante la fase interictale (Thie et al., 1990; Thomsen LL et al., 1995). Lo studio mediante TCD della vasoreattività cerebrale in pazienti emicranici attraverso la valutazione del *breath holding index* (BHI) e dell'indice di reattività vasomotoria (VMR) rappresenta un'indagine non invasiva, facilmente accessibile e con un'elevata risoluzione temporale (Dora e Balkan, 2002; Kastrup et al., 1998; Reinhard et al., 2007; Silvestrini et al., 2004; Vernieri et al., 2008). Tuttavia, i risultati emersi dai differenti studi sono stati ampiamente disomogenei tra loro, dimostrandosi in molti casi contrastanti. Una reattività aumentata (Dora e Balkan,



2002), ridotta (Silvestrini et al., 1995) o sovrapponibile (Reinhard et al., 2007) tra soggetti di controllo e pazienti affetti da emicrania senz'aura sono state tutte riportate in precedenti studi effettuati mediante TCD misurando i valori di velocità nelle arterie cerebrali medie dopo il periodo di apnea. Per quanto riguarda invece gli emicranici con aura, alcuni degli studi di vasoreattività cerebrale mostrano una differenza non significativa tra i valori di velocità a livello delle arterie cerebrali medie rispetto a pazienti affetti da emicrania comune (Reinhard et al., 2007; Silvestrini et al., 1996). Uno studio, tuttavia, ha evidenziato valori di velocità inferiori alla media e pertanto una più bassa vasoreattività nelle arterie cerebrali posteriori di pazienti affetti da emicrania con aura rispetto ad emicranici senz'aura e a soggetti di controllo (Silvestrini et al., 2004). Una possibile spiegazione di questa ampia variabilità nei risultati potrebbe essere rappresentata, come suggerito da alcuni autori, dall'elevata variabilità interindividuale dell'emicrania nella fisiopatologia di differenti fasi di malattia, dalle caratteristiche cliniche dei pazienti e, non da ultimo, dal tempo dell'indagine. Per tale motivo, nel nostro studio abbiamo cercato di includere una popolazione quanto il più possibile omogenea: non vi erano infatti significative differenze tra i controlli sani ed i pazienti emicranici in termini di età e sesso. Nessuno dei soggetti inclusi nello studio era dedito al fumo di sigaretta, cosa che avrebbe potuto inficiare i risultati al test di vasoreattività cerebrale. Inoltre, per tutti i soggetti di sesso femminile inclusi nel progetto, l'indagine è stata effettuata nella stessa fase del ciclo ormonale. Abbiamo poi voluto utilizzare uno stimolo metabolico particolarmente incisivo e prolungato per indurre la massima vasodilatazione arteriolare. Questo rende probabilmente conto delle sostanziali differenze rispetto a precedenti studi che hanno invece impiegato uno stimolo meno intenso, come l'apnea volontaria. Inoltre, rappresentando l'emicrania una patologia con un'elevata variabilità fenotipica, le stesse caratteristiche cliniche dei pazienti così come la diversa fase dell'indagine rendono conto dei differenti risultati dei *trials*. A tale proposito, i pazienti inclusi nel presente studio presentavano tutti un'elevata frequenza di attacchi. I soggetti sono stati inoltre sottoposti all'indagine durante la fase interictale di malattia, avendo cura che fossero trascorse almeno 72 ore dalla fine dell'ultimo attacco.

Dora e Balkan hanno documentato un'esagerata risposta all'ipercapnia in 23 pazienti affetti da emicrania senz'aura, utilizzando il *breath holding index* (BHI) come misura della risposta vasomotoria cerebrale. In questo studio, come pure nel nostro, tale risposta risultava simmetrica ed indipendente dal lato predominante del dolore nei soggetti emicranici (Dora e Balkan, 2002). Più recentemente, un'indagine condotta su pazienti con emicrania con aura ha mostrato un'aumentata vasoreattività motoria cerebrale alla CO<sub>2</sub>, valutata mediante TCD e spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS), soltanto nel lato predominante degli attacchi (Vernieri et al., 2008). L'eccessiva risposta all'ipercapnia trovata nei pazienti emicranici è stata riferita ad un'ipersensibilità dei siti recettoriali adrenergici, temporaneamente sopraffatti dall'inalazione di CO<sub>2</sub>. L'accentuata risposta a livello degli adrenocettori locali potrebbe rappresentare la conseguenza di una disregolazione simpatica e rendere pertanto conto di un'instabilità vasomotoria geneticamente determinata in soggetti emicranici. I nostri risultati mostrano un'aumentata risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> in entrambi i gruppi di pazienti emicranici, sia con aura che senz'aura, evidenziando quasi una caratteristica comune di malattia. Ulteriori studi hanno sostenuto la teoria di un'iperresponsività simpatica negli emicranici. Micieli e collaboratori (1995), impiegando il *cold pressure test*, un test cardiovascolare che induce una riproducibile stimolazione simpatica, hanno osservato una differente reattività noradrenergica in pazienti emicranici rispetto a controlli sani, vale a dire un incremento di volume ematico cerebrale ed una riduzione delle resistenze vascolari. Gli autori suggerivano che questa peculiare reattività neuronale/vascolare nei paziente affetti da emicrania potesse rappresentare il tratto predisponente in grado di scatenare gli attacchi e di far precipitare i fenomeni sensoriali, autonomici e comportamentali che generalmente accompagnano il dolore neurovascolare. Ulteriori evidenze sugli alterati meccanismi di autoregolazione cerebrale in pazienti emicranici sono state portate da Nedeltchev e colleghi (2004), che hanno studiato il comportamento di risposta di flusso sia nelle arterie cerebrali medie che in quelle posteriori mediante l'applicazione di stimoli visivi durante il periodo interictale. Ciò che è emerso, è che mentre i valori di velocità delle arterie cerebrali posteriori rimanevano costantemente elevati durante la fase di stimolazione tanto nei pazienti che nei controlli, la velocità delle

arterie cerebrali medie non andava incontro al fenomeno di *habituation*, non riducendosi pertanto progressivamente allo stimolo visivo, nel solo gruppo di pazienti emicranici. Un'alterazione dei meccanismi autonomici che prendono parte ai processi di autoregolazione cerebrale potrebbe spiegare questi risultati. A sostegno di questa ipotesi, uno studio di Muller e Marziniak (2005), che hanno impiegato l'analisi di frequenza dell'autoregolazione dinamica cerebrale per verificare se le alterazioni della regolazione del flusso ematico cerebrale potessero essere trovate alle stesse frequenze di attività del sistema simpatico e di quello parasimpatico, ha interpretato la compromessa autoregolazione osservata in pazienti emicranici come una possibile perdita del controllo autonomico, sia simpatico che parasimpatico, sul flusso ematico cerebrale. In linea con questi dati, il nostro studio conferma un possibile disordine dell'autoregolazione cerebrale in pazienti emicranici, sia con aura che senz'aura, caratterizzato da un'eccessiva risposta dei vasi di resistenza intracranici ad uno stimolo metabolico. Tuttavia, non è possibile stabilire se tali risultati costituiscano semplicemente un epifenomeno di malattia o possano avere implicazioni nella fisiopatologia dell'emicrania.

Recentemente è inoltre emersa in letteratura l'ipotesi, sostenuta da diversi studi, che l'emicrania possa essere correlata ad una disfunzione endoteliale, sia quale causa che come diretta conseguenza di malattia (Tietjen, 2009). Sebbene l'alterazione coinvolga tutte le funzioni endoteliali, quella di gran lunga più indagata è la vasodilatazione endotelio-dipendente. L'endotelio vasale, vero e proprio organo autocrino e paracrino, è in grado di modulare il tono vasale e l'entità del flusso ematico in risposta a stimoli umorali, nervosi e meccanici. Fra i mediatori endoteliali, l'ossido nitrico (NO) riveste un ruolo preminente nel controllo fisiologico del tono vasale, sia in condizioni basali che in risposta a stimoli di varia natura. In condizioni fisiologiche l'endotelio agisce attivamente nell'interscambio cellulare, contribuendo ai processi di angiogenesi, al bilancio della fluidità ematica, alla regolazione dell'infiammazione e dell'attivazione piastrinica (Schiffrin, 2001; Verma et al., 2008). Il termine disfunzione endoteliale indica un'alterazione della normale funzione endoteliale con modificazione di alcune delle caratteristiche strutturali e funzionali. I fattori in grado di causare un

danno funzionale dell'endotelio, sono numerosi e per la maggior parte si identificano con i fattori di rischio cardiovascolare (Panza JA et al., 1990).

La vasodilatazione NO-dipendente sembra giocare un ruolo cruciale nei meccanismi di regolazione chimica sottesi alla reattività vasomotoria cerebrale all'ipercapnia. Inoltre, riveste un ruolo chiave nei processi di sensibilizzazione al dolore che si verificano negli attacchi di emicrania (Olesen et al., 1995). Secondo recenti studi i pazienti emicranici sembrerebbero mostrare un'ipersensibilità all'ossido nitrico così come ad altri stimoli di natura chimica come l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) (D'Amico et al., 2002; Vernieri et al., 2010).

Sebbene la fisiopatologia dell'emicrania non sia stata del tutto spiegata, diversi studi hanno sostenuto l'importante ruolo della genesi vascolare. Sono state riportate alterazioni emodinamiche in pazienti affetti da emicrania sia durante l'attacco che in fase interictale. La vasoreattività cerebrale ai cambiamenti di pressione parziale di CO<sub>2</sub> è risultata alterata in diversi studi durante la fase interictale (Thomsen et al., 1995; Dora e Balkan, 2002). Uno studio di Silvestrini e collaboratori (2004) condotto su un campione di 30 pazienti affetti da emicrania con aura visiva ha mostrato una vasoreattività cerebrale significativamente inferiore rispetto ai soggetti di controllo a livello dell'arteria basilare, dato piuttosto suggestivo di un'alterazione dei meccanismi di adattamento dell'emodinamica cerebrale nel circolo posteriore, possibile fattore predisponente a danni ischemici di tipo focale. I nostri risultati documentano un'accentuata risposta vasomotoria cerebrale durante la fase di ipercapnia, dato che di per sé non rappresenta né si associa ad un aumentato rischio cerebrovascolare per i pazienti affetti da emicrania.

Nella seconda fase del nostro studio abbiamo voluto indagare se un farmaco comunemente impiegato nella terapia preventiva dell'emicrania, come il topiramato, senza un'apparente azione diretta a livello del sistema vascolare potesse modificare la vasoreattività cerebrale nello stesso campione di pazienti emicranici. I nostri risultati mostrano come a due mesi circa dall'inizio della terapia con topiramato la risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> dei pazienti trattati sia significativamente ridotta rispetto alla prima fase di studio, rendendola

praticamente sovrapponibile a quella dei soggetti di controllo arruolati. In tutti i pazienti si è inoltre riscontrato un netto miglioramento della sintomatologia cefalalgica in termini di frequenza ed intensità degli attacchi. Un dato rilevante del nostro studio è che ad essersi modificata, dopo trattamento preventivo, risulta la sola vasoreattività cerebrale e non i valori di velocità media a riposo registrati a livello delle arterie cerebrali medie dei pazienti. Non esistono dati in letteratura circa il possibile effetto del topiramato sulla risposta vasomotoria cerebrale in pazienti affetti da emicrania. Diversi studi hanno indagato questa risposta dopo trattamento preventivo con farmaci appartenenti a differenti categorie farmacologiche come i  $\beta$ -bloccanti o i calcio-antagonisti. In particolare, Dora e collaboratori (2003) hanno studiato la vasoreattività cerebrale in un gruppo di 20 pazienti affetti da emicrania senz'aura prima e dopo trattamento preventivo con flunarizina. I loro risultati mostrano una significativa riduzione della risposta vasomotoria cerebrale, valutata mediante BHI, rispetto ai dati del *baseline*. Gli autori ipotizzavano un possibile meccanismo di normalizzazione dell'attività nervosa simpatica da parte del farmaco impiegato, non escludendo, tuttavia, una possibile azione sui centri di controllo autonomico-vascolare localizzati a livello del tronco cerebrale, attraverso una modulazione dell'ipersensibilità da parte dei pazienti emicranici ad elevate concentrazioni di CO<sub>2</sub>.

Il topiramato presenta quattro potenziali meccanismi d'azione: modula i canali ionici voltaggio-dipendenti del sodio e del calcio, blocca la trasmissione glutammatergica eccitatoria e potenzia quella inibitoria gabaergica (Shank et al., 2000). Questi meccanismi sono in grado di influenzare lo stato eccitatorio di una cellula, influenzando i complessi proteici dei canale/recettori attraverso una modificazione del loro stato di fosforilazione. Si ipotizza che simili meccanismi siano in grado di influenzare l'attività trigemino-vascolare. In un modello animale il topiramato si è dimostrato in grado di inibire il *firing* neuronale a livello del complesso trigeminocervicale dopo stimolazione del seno sagittale superiore (Storer e Goadsby, 2004). In un altro modello animale è stato documentato come il topiramato sia in grado di inibire la vasodilatazione neurogenica durale indotta dall'ossido nitrico (Akerman e Goadsby, 2005). Questo dato sembra suggerire un effetto pregiunzionale del topiramato a livello del sistema trigemino-vascolare,

cosa che spiegherebbe il suo effetto antiemicranico. La vasodilatazione neurogenica durale è innescata dall'attivazione delle fibre nervose sensitive trigeminali perivascolari, mediante il rilascio del peptide associato al gene per la calcitonina (CGRP) responsabile della vasodilatazione durale stessa (Williamson et al., 1997). Il CGRP agisce direttamente sui recettori CGRP a livello della muscolatura liscia dei vasi durali; pertanto qualsiasi inibizione della vasodilatazione CGRP-indotta è verosimile essere di tipo post-sinaptico. Il topiramato, come emerso in modelli animali, è incapace di inibire la vasodilatazione durale CGRP-indotta, e pertanto è improbabile che possa agire a livello post-sinaptico. Questo farmaco sembra invece in grado di attenuare la risposta all'ossido nitrico, presumibilmente inibendo il rilascio di CGRP dai neuroni trigeminali. L'ossido nitrico rappresenta un potente vasodilatatore endogeno con un rilevante spettro di azioni biologiche (Moncada et al., 1991). L'infusione endovenosa di trinitrato di glicerina (GTN, un donatore esogeno di NO) causa un'immediata cefalea nei pazienti emicranici ed in alcuni soggetti di controllo, ed è anche in grado di indurre un attacco ritardato di emicrania diverse ore dal termine della sua infusione (Olesen et al., 1994). Parallelamente è stato osservato come l'infusione di NO sia in grado di determinare una vasodilatazione riproducibile dell'arteria cerebrale media nel ratto (Akerman et al., 2002). Si crede attualmente che l'ossido nitrico attivi la guanilato-ciclastasi, catalizzando la formazione del guanosin-monofosfato ciclico (cGMP); l'attivazione di questa via porterebbe al rilassamento della muscolatura liscia e alla vasodilatazione dei vasi sanguigni (Moncada et al., 1991). Oltre all'azione diretta sui vasi cerebrali durali, si crede attualmente che l'NO sia in grado di attivare i neuroni trigeminovascolari, causando il rilascio di CGRP dai terminali nervosi, responsabile della vasodilatazione durale. La vasodilatazione cerebrale e durale indotta dall'ossido nitrico viene tuttavia inibita dall'utilizzo di un antagonista del recettore per il CGRP (Akerman et al., 2004). Pertanto, si pensa che l'NO e il CGRP agiscano in maniera sinergica nel promuovere l'attivazione del complesso trigeminovascolare, dal momento che inibitori dell'NO sintetasi sono capaci di inibire la vasodilatazione CGRP-indotta (Akerman et al., 2002). Gli studi attuali sembrano indicare come il topiramato sia capace di attenuare la risposta dell'NO, presumibilmente inibendo il rilascio del CGRP dai neuroni trigeminali, ma esiste

ancora l'interazione NO-cGMP a produrre la dilatazione dei vasi sanguigni. Sembrerebbe improbabile che il topiramato agisca direttamente sui vasi sanguigni durali, dal momento che è incapace di inibire la dilatazione CGRP-indotta.

La normalizzazione della risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> osservata nei pazienti emicranici, dopo terapia preventiva con topiramato potrebbe essere ascrivita all'azione di inibizione della vasodilatazione, mediante attenuazione della risposta NO-mediata. Questa azione sembrerebbe esplicarsi a livello centrale, e non direttamente sulla muscolatura liscia vasale. La risposta vasomotoria all'ipercapnia sembra essere mediata da differenti sistemi e l'ossido nitrico, potrebbe rivestire a tal proposito un ruolo chiave, come emerso da recenti studi (Smith et al., 1997). E' tuttora incerto il meccanismo sotteso all'aumentata produzione di NO durante la fase di iperpnea. E' noto tuttavia che altre fonti di NO, oltre all'endotelio vasale, come ad esempio i neuroni perivascolari e gli astrociti, possano influenzare la muscolatura liscia dei vasi cerebrali. Parte della vasodilatazione sembra essere legata all'effetto diretto dell'acidosi extracellulare associata all'ipercapnia sulla muscolatura liscia vascolare. Altri sistemi responsabili della vasodilatazione dipendenti o meno dall'endotelio vasale potrebbero agire parallelamente all'ossido nitrico nella risposta vasomotoria all'aumentata concentrazione di CO<sub>2</sub>. La via comune effettrice che porta al rilassamento della cellula muscolare liscia sembra essere comunque rappresentata dall'attivazione dei canali del potassio ATP-dipendenti, responsabili dell'iperpolarizzazione di membrana con conseguente riduzione della concentrazione intracitoplasmatica di calcio e del rilassamento muscolare. Sappiamo inoltre come la risposta del letto vascolare a sostanze vasodilatatorie dipenda in larga parte dal tono vasale al momento dello stimolo. La vasodilatazione dipendente dall'NO è indubbiamente implicata nei meccanismi di chemoregolazione che sottendono la risposta vasomotoria cerebrale all'ipercapnia e recenti dati pubblicati in letteratura hanno evidenziato come i pazienti affetti da emicrania presentino un'ipersensibilità all'NO (Vernieri et al., 2010). Questo dato potrebbe essere spiegato da una disfunzione del sistema autonomico nei pazienti affetti da emicrania. A tal proposito, alcuni autori hanno riportato una possibile compromissione del controllo autonomico simpatico sul flusso ematico cerebrale

in questi pazienti (Muller e Marziniak, 2005). Tale perdita del controllo autonomico sembrerebbe tradursi in un'ipersensibilità all'NO, così come ad altri stimoli di natura chimica, come la CO<sub>2</sub>.

Un limite del nostro studio è senza dubbio rappresentato dal numero esiguo del campione che potrebbe ridurre la significatività statistica dei risultati ottenuti. Questi ultimi sembrano, tuttavia, particolarmente interessanti alla luce dei possibili meccanismi farmacodinamici alla base dell'azione preventiva del topiramato nei pazienti affetti da emicrania. In letteratura, inoltre, nessuno studio fino ad oggi ha impiegato tale farmaco per studiare un fenomeno di natura neurovascolare come la risposta vasomotoria cerebrale ad uno stimolo metabolico. E, d'altra parte, per altri farmaci, comunemente impiegati nella prevenzione dell'emicrania è ben noto il meccanismo a livello della muscolatura liscia vasale. Ulteriori studi, condotti su campioni di popolazione più ampi sono necessari per definire il possibile effetto del topiramato sulla modulazione della vasoreattività in pazienti emicranici, che rimane tuttora ipotetico.



## Conclusioni

In linea con dati recentemente pubblicati, col presente studio abbiamo documentato, mediante metodica transcranica, un'accentuata vasoreattività cerebrale, in termini di esagerata risposta vasomotoria all'ipercapnia, in pazienti emicranici ad elevata frequenza, sia con aura che senz'aura, rispetto a soggetti di controllo. Il nostro studio suggerisce l'ipotesi di un possibile disordine dell'autoregolazione cerebrale in pazienti emicranici. Questo dato potrebbe essere legato ad un'ipersensibilità a sostanze vasoattive liberate in seguito all'incremento di CO<sub>2</sub>. Tra queste, indubbiamente l'ossido nitrico sembra rivestire un ruolo cruciale nei meccanismi di vasodilatazione legati all'ipercapnia. D'altra parte, non possiamo escludere nei pazienti affetti da emicrania un'accentuata sensibilità dei siti recettoriali adrenergici temporaneamente occupati dall'inalazione di CO<sub>2</sub>. L'eccessiva risposta a livello degli adrenocettori locali potrebbe essere la conseguenza di una disregolazione simpatica e potrebbe rendere conto di un'instabilità vasomotoria geneticamente determinata in soggetti emicranici. Una plausibile spiegazione di quest'alterazione nei meccanismi di autoregolazione cerebrale potrebbe essere rappresentata dalla mancanza di un adeguato controllo autonomico del flusso ematico cerebrale. I nostri risultati mostrano un'accentuata risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> in entrambi i gruppi di pazienti, evidenziando quasi un caratteristica comune di malattia.

La terapia preventiva con topiramato risulta efficace non solo nel ridurre la frequenza degli attacchi nel nostro gruppo di pazienti ma, dato interessante, nel normalizzare l'accentuata risposta vasomotoria alla CO<sub>2</sub>. La normalizzazione della risposta vasomotoria cerebrale alla CO<sub>2</sub> osservata nei pazienti emicranici, potrebbe essere ascritta all'azione di inibizione da parte di questo farmaco sulla vasodilatazione neurogenica, mediante attenuazione della risposta NO-mediata. Questa azione sembrerebbe esplicarsi a livello centrale, e non direttamente sulla muscolatura liscia vasale, come emerso da recenti dati su modelli di studio animale. L'esatto meccanismo d'azione del topiramato sia nella terapia preventiva dell'emicrania che nella modulazione della vasoreattività cerebrale rimane tuttora ipotetico.

## Tabelle e Figure

Variabili	Pazienti emicranici		Controlli
	con aura	senz'aura	
Numero	8	12	19
Età	31,3±7,4	29,3±7,6	30,3±3,1
Sesso(F/M)	4/4	9/3	10/9
Lato (D/S/B)	4/1/3	2/4/6	-
Frequenza attacchi (n/mese)	5,1±2	6,8±2,7	-
Giorni di cefalea al mese	9,5±4,5	11,3±3,0	-

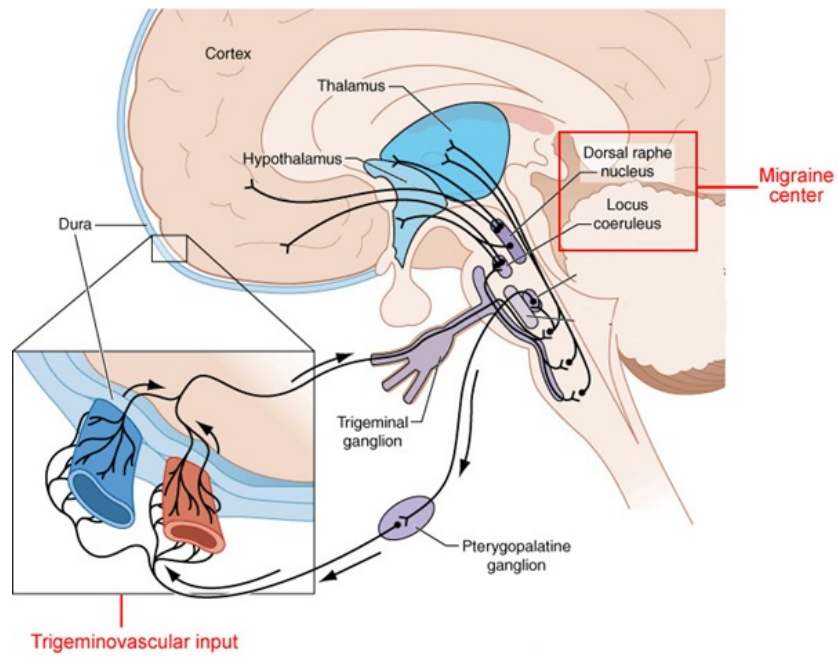
Tabella 1. Caratteristiche demografiche nel gruppo di pazienti emicranici e in quello di controllo.

Variabili	Pazienti		Controlli	p
	con aura	senz'aura		
Velocità media ACM destra (cm/sec)	63,8±8,2	64,7±8,6	64,9±8,7	n.s
Velocità media ACM sinistra(cm/sec)	62,7±8,4	63,4±8,7	64,4±8,3	n.s
VMR destra(%)	58,5±8,9	60,7±8,5	44,2±11	.001
VMR sinistra(%)	60,3±8,3	58,2±8,7	44,5±5,3	.001
Pressione arteriosa(mmHg)	82,8±7,4	81,2±8,1	83,5±7,3	n.s.
Frequenza cardiaca (bpm)	68,1±7,3	67,9±8,6	68,3±8,8	n.s

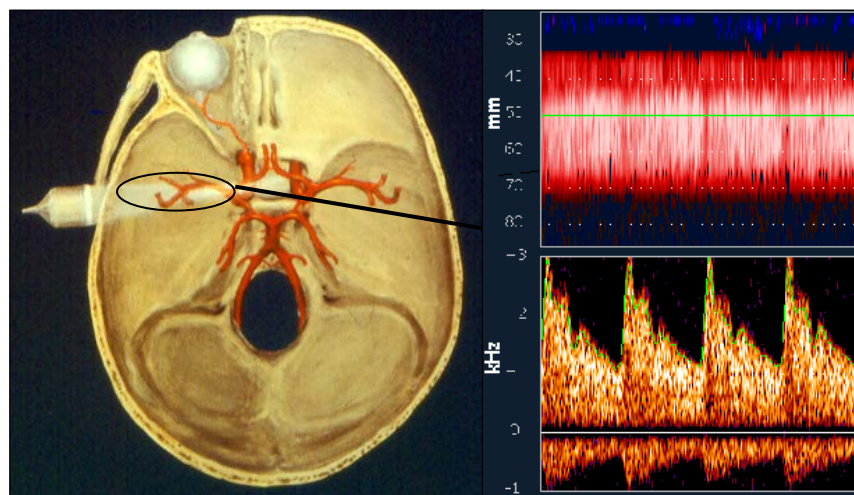
Tabella 2. Parametri analizzati nel gruppo di pazienti ed in quello di controllo.

Variabili	T0			T1	
	con aura	senz'aura		con aura	senz'aura
Velocità media ACM destra (cm/sec)	63,8±8,2	64,7±8,6		64,4±8,3	63,6±8,3
Velocità media ACM sinistra(cm/sec)	62,7±8,4	63,4±8,7		63,7±8,6	62,9±8,6
R VMR (%)	58,5±8,9	60,7±8,5	*	44,8±6,6	48,1±7,1
L VMR (%)	60,3±8,3	58,2±8,7	*	45,8±6,9	44,8±6,6
Giorni cefalea/mese	9,5±4,5	11,3±3,0	*	2,7±1,8	4,0±1,6

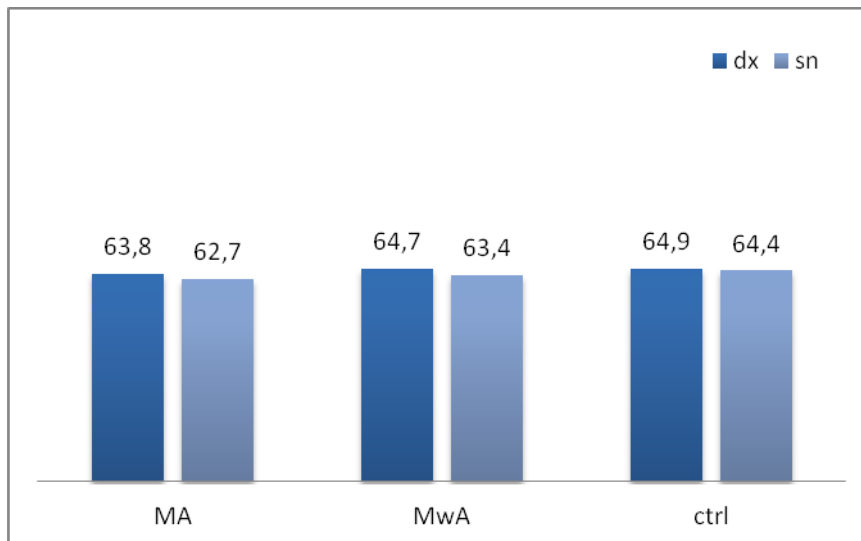
Tabella 3. Variabili analizzate nel gruppo di pazienti emicranici con e senz'aura al *baseline* e dopo terapia preventiva con topiramato. \*= p< 0.01



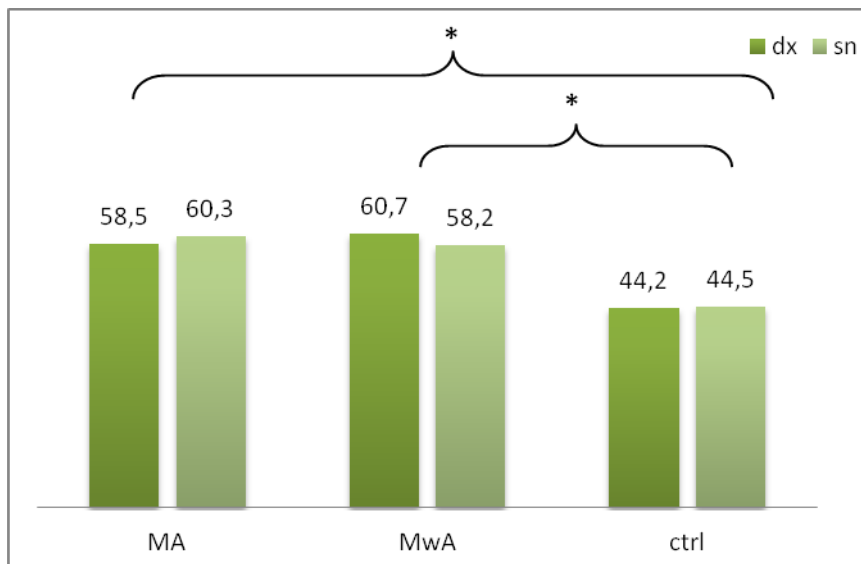
**Figura 1:** Strutture implicate nella fisiopatologia dell'attacco emicranico.



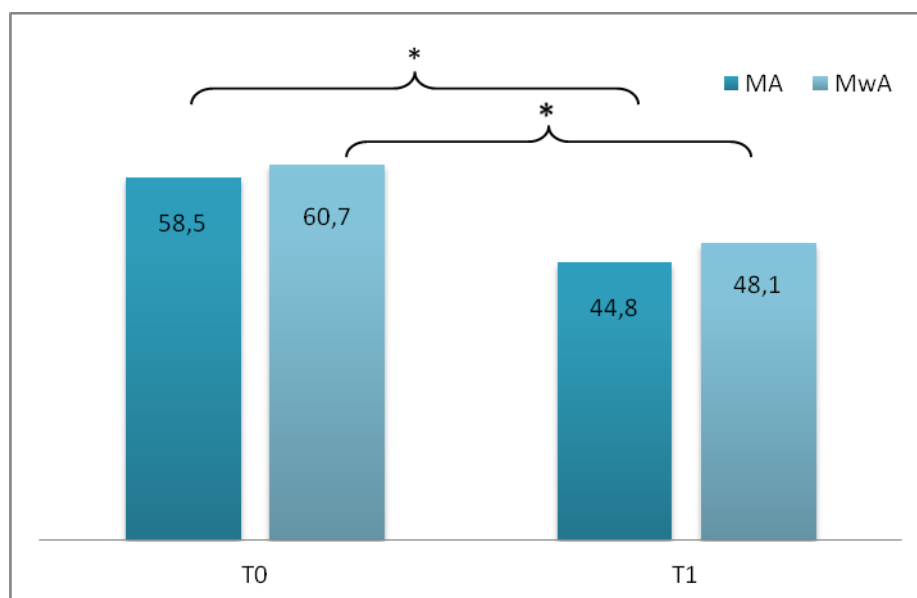
**Figura 2:** Attraverso le differenti finestre acustiche è possibile identificare il flusso delle principali arterie afferenti al circolo di Willis.



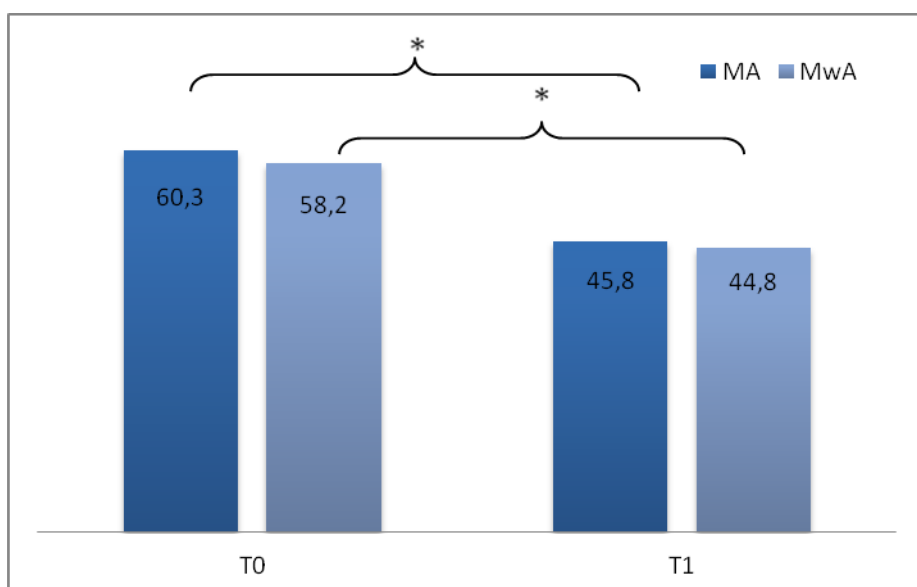
**Grafico 1**-Velocità medie delle arterie cerebrali medie di destra e sinistra registrate nei due gruppi di pazienti emicranici e nei soggetti di controllo.  $p = n.s.$



**Grafico 2**-Vasoreattività cerebrale espressa come VMR nei pazienti con emicrania con aura e senz'aura e nel gruppo di controllo.  $* = p < 0.01$



**Grafico 3-** Vasoreattività cerebrale espressa come VMR per il lato destro nei pazienti con emicrania con aura e senz'aura al *baseline* (T0) e a due mesi dall'inizio del trattamento con topiramato (T1). \*=  $p < 0.01$



**Grafico 4-** Vasoreattività cerebrale espressa come VMR per il lato sinistro nei pazienti con emicrania con aura e senz'aura al *baseline* (T0) e a due mesi dall'inizio del trattamento con topiramato (T1). \*=  $p < 0.01$

## Bibliografia

- Aaslid R. *Transcranial Doppler Sonography*. New York: Springer, 1986.
- Aaslid R, Markwalder TM, Nornes H. *Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries*. J Neurosurg 1982; 57: 769-774.
- AbuRahama AF, Bergan JJ. *Noninvasive Vascular Diagnosis. A Practical Guide to therapy*. Springer, 2006.
- Afridi SK, Matharu MS, Lee L, Kaube H, Friston KJ, Frackowiak RS, Goadsby PJ. *A PET study exploring the laterality of brainstem activation in migraine using glyceryl trinitrate*. Brain. 2005; 128(Pt 4):932-9.
- Akerman S and Goadsby PJ. *Dopamine and migraine: biology and clinical implications*. Cephalalgia. 2007; 27:1308-14.
- Akerman S and Goadsby PJ. *Topiramate inhibits trigeminovascular activation: an intravital microscopy study*. Br J Pharmacol. 2005; 146:7-14.
- Akerman S, Holland PR, Goadsby PJ. *Mechanically-induced cortical spreading depression associated regional cerebral blood flow changes are blocked by Na<sup>+</sup> ion channel blockade*. Brain Res. 2008; 1229:27-36.
- Akerman S, Kaube H, Goadsby PJ. *Anandamide acts as a vasodilator of dural blood vessels in vivo by activating TRPV1 receptors*. Br J Pharmacol. 2004; 142:1354-60.
- Akerman S, Williamson DJ, Goadsby PJ. *Voltage-dependent calcium channels are involved in neurogenic dural vasodilatation via a presynaptic transmitter release mechanism*. Br J Pharmacol. 2003; 140:558-66.
- Akerman S, Williamson DJ, Kaube H, Goadsby PJ. *The effect of anti-migraine compounds on nitric oxide-induced dilation of dural meningeal vessels*. Eur J Pharmacol. 2002; 452:223-8.
- Arbab MA, Wiklund L, Svendgaard NA. *Origin and distribution of cerebral vascular innervation from superior cervical, trigeminal and spinal ganglia investigated with retrograde and anterograde WGA-HRP tracing in the rat*. Neuroscience. 1986; 19:695-708.
- Ayajiki K, Okamura T, Toda N. *Flunarizine, an anti-migraine agent, impairs nitroxidergic nerve function in cerebral arteries*. Eur J Pharmacol. 1997; 329:49-53.

- Ayata C, Jin H, Kudo C, Dalkara T, Moskowitz MA. *Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis*. Ann Neurol. 2006; 59:652-61.
- Bach FW. *Beta-endorphin in migraine*. Cephalalgia. 1992; 12:390-1.
- Bahra A, Matharu MS, Buchel C, Frackowiak RS, Goadsby PJ. *Brainstem activation specific to migraine headache*. Lancet. 2001; 31;357(9261):1016-7.
- Bangalore S, Messerli FH, Kostis JB, Pepine CJ. *Cardiovascular protection using beta-blockers: a critical review of the evidence*. J Am Coll Cardiol. 2007; 50:563-72.
- Bartels E. Color-Coded Duplex *Ultrasonography of the Cerebral Vessels. Atlas and Manual*. Stuttgart: Schattauer, 1998.
- Bergerot A, Storer RJ, Goadsby PJ. *Dopamine inhibits trigeminovascular transmission in the rat*. Ann Neurol. 2007;61:251-62.
- Berrino L, Oliva P, Rossi F, Palazzo E, Nobili B, Maione S. *Interaction between metabotropic and NMDA glutamate receptors in the periaqueductal grey pain modulatory system*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2001; 364:437-43.
- Bolay H and Moskowitz MA. *Mechanism of pain modulation in chronic syndromes*. Neurology 2002; 59 (5 suppl 2):S2-S7.
- Bowyer SM, Aurora KS, Moran JE, Tepley N, Welch KM. *Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura*. Ann. Neurol. 2001; 50:582–587.
- Brandes JL, Saper JR, Diamond M, Couch JR, Lewis DW, Schmitt J, Neto W, Schwabe S, Jacobs D; *MIGR-002 Study Group*. *Topiramate for migraine prevention: a randomized controlled trial*. JAMA. 2004; 291:965-73.
- Burstein R, Cutrer MF, Yarnitsky D. *The development of cutaneous allodynia during a migraine attack clinical evidence for the sequential recruitment of spinal and supraspinal nociceptive neurons in migraine*. Brain. 2000; 123:1703-9.
- Burstein R, Levy D, Jakubowski M. *Effects of sensitization of trigeminovascular neurons to triptan therapy during migraine*. Rev Neurol (Paris). 2005;161:658-60.
- Burstein R, Yarnitsky D, Goor-Aryeh I, Ransil BJ, Bajwa ZH. *An association between migraine and cutaneous allodynia*. Ann Neurol. 2000; 47:614-624.
- Calabresi P, Centonze D, Bernardi G. *Cellular factors controlling neuronal vulnerability in the brain: a lesson from the striatum*. Neurology. 2000; 55:1249-55.

Calabresi P, Galletti F, Rossi C, Sarchielli P, Cupini LM. *Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms*. Trends Pharmacol Sci. 2007; 28:188-95.

Campo-Arias A. *Antidepressants in migraine prophylaxis: an approximation*. Rev Neurol. 2004; 38:864-8.

Caplan LR, Brass LM, DeWitt LD, Adams RJ, Gomez C, Otis S, Weschler LR, von Reutern GM. *Transcranial Doppler ultrasound: present status*. Neurology 1990;40: 696-700.

Cerbo R, Barbanti P, Buzzi MG, Fabbrini G, Brusa L, Roberti C, Zanette E, Lenzi GL. *Dopamine hypersensitivity in migraine: role of the apomorphine test*. Clin Neuropharmacol. 1997; 20:36-41.

Ciancarelli I, Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Marini C, Carolei A. *Flunarizine effects on oxidative stress in migraine patients*. Cephalalgia. 2004; 24: 528-32.

Colombo B, Annovazzi PO, Comi G. *Therapy of primary headaches: the role of antidepressants*. Neurol Sci. 2004; 25:S171-5.

Coppola G, Pierelli F, Schoenen J. *Is the cerebral cortex hyperexcitable or hyperresponsive in migraine?* Cephalalgia. 2007; 27:1427-39.

Costa C, Leone G, Saulle E, Pisani F, Bernardi G, Calabresi P. *Coactivation of GABA(A) and GABA(B) receptor results in neuroprotection during in vitro ischemia*. Stroke. 2004; 35:596-600.

Costa C, Martella G, Picconi B, Prosperetti C, Pisani A, Di Filippo M, Pisani F, Bernardi G, Calabresi P. *Multiple mechanisms underlying the neuroprotective effects of antiepileptic drugs against in vitro ischemia*. Stroke. 2006; 37:1319-26.

Crowder D, MacLay WP. *Pizotifen once daily in the prophylaxis of migraine: results of a multi-centre general practice study*. Curr Med Res Opin. 1984; 9:280-5.

Cupini LM, Bari M, Battista N, Argirò G, Finazzi-Agrò A, Calabresi P, Maccarrone M. *Biochemical changes in endocannabinoid system are expressed in platelets of female but not male migraineurs*. Cephalalgia. 2006; 26:277-81.



Cushing H *The sensory distribution of the fifth cranial nerve*. Bull Johns Hopkins Hosp 1984; 15:213-232.

Cutrer FM. *Antiepileptic drugs: how they work in headache*. Headache. 2001; 4:S3-10.

D'Amico D, Ferraris A, Leone M, Catania A, Carlin A, Grazzi L, Bussone G. *Increased plasma nitrites in migraine and cluster headache patients in interictal period: basal hyperactivity of L-arginine-NO pathway?* Cephalalgia. 2002; 22:33-6.

Dahlöf CG, Dimenäs E. *Migraine patients experience poorer subjective well-being/quality of life even between attacks*. Cephalalgia. 1995; 15:31-6.

Dalkara T, Zervas NT, Moskowitz MA. *From spreading depression to the trigeminovascular system*. Neurol Sci. 2006; 27 (Suppl 2):S86-90.

Delcker A and Turowski B. *Diagnostic value of three-dimensional transcranial contrast duplex sonography*. J Neuroimaging 1997; 7: 139-44

Demchuk AM, Christou I, Wein TH, Felberg RA, Malkoff M, Grotta JC, Alexandrov AV. *Specific transcranial Doppler flow findings related to the presence and site of arterial occlusion*. Stroke 2000; 31: 140-6.

Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. *Brainstem and hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks*. Cephalalgia. 2004; 24:775-814.

Denuelle M, Fabre N, Payoux P, Chollet F, Geraud G. *Hypothalamic activation in spontaneous migraine attacks*. Headache. 2007; 47:1418-26.

Derbyshire SWG, Jones AK, Gyulai F, Clark S, Townsend D, Firestone LL. *Pain processing during three levels of noxious stimulation produces differential patterns of central activity*. Pain. 1997; 73:431-45.

Diener HC. *Pharmacological approaches to migraine*. J Neural Transm 2003; 64:35-63.

Dodick DW, Silberstein SD. *Migraine prevention*. Pract Neurol. 2007; 7:383-93.

Dora B and Balkan S. *Exaggerated interictal cerebrovascular reactivity but normal blood flow velocities in migraine without aura*. Cephalalgia. 2002; 22:288-90.

Dora B, Balkan S, Tercan E. *Normalization of high interictal cerebrovascular reactivity in migraine without aura by treatment with flunarizine*. Headache. 2003; 43:464-9.

Edvinsson L, Owman C, Siesjö B. Physiological role of cerebrovascular sympathetic nerves in the autoregulation of cerebral blood flow. Brain Res. 1976; 117:519-23.

Ferrari MD. *The economic burden of migraine to society*. Pharmacoeconomics 1998; 13:667-76.

Ferrari MD, Odink J, Bos KD, Malessy MJ, Bruyn GW. *Neuroexcitatory plasma amino acids are elevated in migraine*. Neurology. 1990; 40:1582-6.

Galletti F, Cupini LM, Corbelli I, Calabresi P, Sarchielli P. *Pathophysiological basis of migraine prophylaxis*. Prog Neurobiol. 2009; 89:176-92.

Ghelardini C, Galeotti N, Bartolini A. *Antinociception induced by amitriptyline and imipramine is mediated by alpha2A-adrenoceptors*. Jpn J Pharmacol. 2000; 82:130-7.

Goadsby PJ. *Advances in the understanding of headache*. Br Med Bull. 2005; 73-74:83-92.

Goadsby PJ. *Emerging therapies for migraine*. Nat Clin Pract Neurol. 2007; 3:610-9.

Goadsby PJ. *Migraine, aura, and cortical spreading depression: why are we still talking about it?* Ann. Neurol. 2001; 49:4-6.

Goadsby PJ, Charbit AR, Andreou AP, Akerman S, Holland PR. *Neurobiology of migraine*. Neuroscience. 2009 30;161:327-41.

Goadsby PJ, Classey JD. *Glutamatergic transmission in the trigeminal nucleus assessed with local blood flow*. Brain Res. 2000; 875:119-24.

Goadsby PJ, Duckworth JW. *Low frequency stimulation of the locus coeruleus reduces regional cerebral blood flow in the spinalized cat*. Brain Res. 1989; 476:71-7.

Goadsby PJ, Lambert GA, Lance JW. *Differential effects on the internal and external carotid circulation of the monkey evoked by locus coeruleus stimulation*. Brain Res. 1982;249:247-54.

- Goadsby PJ, Zagami AS, Lambert GA. *Neural processing of craniovascular pain: a synthesis of the central structures involved in migraine*. Headache. 1991; 31:365-71.
- Gorji A. *Spreading depression: a review of the clinical relevance*. Brain Res Brain Res Rev. 2001; 38:33-60.
- Gryder DS and Rogawski MA. *Selective antagonism of GluR5 kainate-receptor-mediated synaptic currents by topiramate in rat basolateral amygdala neurons*. J Neurosci. 2003; 23:7069-74.
- Guido W, Lo FS, Erzurumlu RS. *Synaptic plasticity in the trigeminal principal nucleus during the period of barrelette formation and consolidation*. Brain Res Dev Brain Res. 2001 Dec; 132:97-102.
- Haas DC, Kent PF, Friedman DI. *Headache caused by a single lesion of multiple sclerosis in the periaqueductal gray area*. Headache. 1993; 33:452-5.
- Hadjikhani N, Sanchez del Rio M, Wu O, Schwartz D, Bakker D, Fischl B, Kwong KK, Cutrer FM, Rosen BR, Tootell RB, Sorensen AG, Moskowitz MA. *Mechanisms of migraine aura revealed by functional MRI in human visual cortex*. Proc. Natl Acad. Sci. USA 2001; 98:4687–4692.
- Hanbauer I, Kopin JJ, Guidotti A, Costa E. *Induction of tyrosine hydroxylase elicited by beta adrenergic receptor agonists in normal and decentralized sympathetic ganglia: role of cyclic 3',5' - adenosine monophosphate*. J Pharmacol Exp Ther. 1975; 193:95-104.
- Hamel E. *Serotonin and migraine: biology and clinical implications*. Cephalalgia. 2007; 27:1293-300.
- Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society . *The International Classification of Headache Disorders: 2nd edition*. Cephalalgia 2004; 24 (Suppl 1):9-160.
- Hieble JP. *Adrenoceptor subclassification: an approach to improved cardiovascular therapeutics*. Pharm Acta Helv. 2000; 74:163-71.
- Hoskin KL, Bulmer DC, Lasalandra M, Jonkman A, Goadsby PJ. *Fos expression in the midbrain periaqueductal grey after trigeminovascular stimulation*. J Anat. 2001; 198:29-35.
- Iqbal A, Vanhoutte PM. *Flunarizine inhibits endothelium-dependent hypoxic facilitation in canine coronary arteries through an action on vascular smooth muscle*. Br J Pharmacol. 1988; 95:789-94.

- Jen JC, Wan J, Palos TP, Howard BD, Baloh RW. *Mutation in the glutamate transporter EAAT1 causes episodic ataxia, hemiplegia, and seizures*. Neurology. 2005; 65:529-34.
- Kalkman HO. *Is migraine prophylactic activity caused by 5-HT<sub>2B</sub> or 5-HT<sub>2C</sub> receptor blockade?* Life Sci. 1994; 54:641-4.
- Kaminski RM, Banerjee M, Rogawski MA. *Topiramate selectively protects against seizures induced by ATPA, a GluR5 kainate receptor agonist*. Neuropharmacology. 2004; 46:1097-104.
- Kaps M, Damian MS, Teschendorf U, Dorndorf W. *Transcranial Doppler ultrasound findings in middle cerebral artery occlusion*. Stroke 1990; 21: 532-7.
- Kastrup A, Thomas C, Hartmann C, Schabet M. *Cerebral blood flow and CO<sub>2</sub> reactivity in interictal migraineurs: a transcranial Doppler study*. Headache. 1998; 38:608-13.
- Kaube H and Goadsby PJ. *Anti-migraine compounds fail to modulate the propagation of cortical spreading depression in the cat*. Eur Neurol. 1994; 34:30-5.
- Knight YE, Bartsch T, Goadsby PJ. *Trigeminal antinociception induced by bicuculline in the periaqueductal gray (PAG) is not affected by PAG P/Q-type calcium channel blockade in rat*. Neurosci Lett. 2003; 336:113-6.
- Knight YE, Bartsch T, Kaube H, Goadsby PJ. *P/Q-type calcium-channel blockade in the periaqueductal gray facilitates trigeminal nociception: a functional genetic link for migraine?* J Neurosci. 2002; 22:RC213.
- Knight YE and Goadsby PJ. *The periaqueductal grey matter modulates trigeminovascular input: a role in migraine?* Neuroscience 2001; 106:793–800.
- Kuzniecky R, Hetherington H, Ho S, Pan J, Martin R, Gilliam F, Hugg J, Faught E. *Topiramate increases cerebral GABA in healthy humans*. Neurology. 1998; 51:627-9.
- Lambert GA, Hoskin KL, Zagami AS. *Cortico-NRM influences on trigeminal neuronal sensation*. Cephalalgia. 2008; 28:640-52.
- Lauritzen M. *Pathophysiology of the migraine aura. The spreading depression theory*. Brain 1994; 117:199–210.
- Limmroth V, Michel MC. *The prevention of migraine: a critical review with special emphasis on beta-adrenoceptor blockers*. Br J Clin Pharmacol. 2001; 52:237-43.

Linde K and Rossnagel K. *Propranolol for migraine prophylaxis*. Cochrane Database Syst Rev. 2004; (2):CD003225.

Lino-de-Oliveira C, de Oliveira RM, Pádua Carobrez A, de Lima TC, del Bel EA, Guimarães FS. *Antidepressant treatment reduces Fos-like immunoreactivity induced by swim stress in different columns of the periaqueductal gray matter*. Brain Res Bull. 2006; 70:414-21.

Lipton RB, Diamond S, Reed M, Diamond ML, Stewart WF. *Migraine diagnosis and treatment: results from the American Migraine Study II*. Headache. 2001; 41(7):638-45.

Lipton RB, Scher AI, Steiner TJ . *Patterns of health care utilization for migraine in England and the United States*. Neurology 2003; 60:441-448.

Lovick TA, Robinson JP. *Bulbar raphe neurones with projections to the trigeminal nucleus caudalis and the lumbar cord in the rat: a fluorescence double-labelling study*. Exp Brain Res. 1983; 50:299-308.

Malick A and Burstein R. *Peripheral and central sensitization during migraine*. Funct Neurol. 2000;15 (Suppl 3):28-35.

Markowitz S, Saito K, Moskowitz MA . *Neurogenically mediated leakage of plasma protein occurs from blood vessels in dura mater but not brain*. J Neurosci 1987; 7:4129–4136.

Markus HS and Harrison MJ. *Estimation of cerebrovascular reactivity using transcranial Doppler, including the use of breath-holding as the vasodilatory stimulus*. Stroke. 1992; 23:668-73.

Martella G, Costa C, Pisani A, Cupini LM, Bernardi G, Calabresi P. *Antiepileptic drugs on calcium currents recorded from cortical and PAG neurons: therapeutic implications for migraine*. Cephalalgia. 2008; 28:1315-26.

Martini B, Greco GS, Fortini D, Costa A, Nappi G, Santorelli FM. *Heterogeneity of migraine: many genes for many phenotypes?* Funct al Neurol 2001; 16 (suppl 1):63-67.

May A and Goadsby PJ . *The trigeminovascular system in humans: pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation*. J. Cereb. Blood Flow Metab 1999, 19:115–127.

Mayberg M, Langer RS, Zervas NT, Moskowitz MA . *Perivascular meningeal projections from cat trigeminal ganglia: possible pathway for vascular headache in man*. Science 1981, 213: 228-230.

Mayberg MR, Zervas NT, Moskowitz MA. *Trigeminal projections to supratentorial pial and dural blood vessels in cats demonstrated by horseradish peroxidase histochemistry*. J Comp Neurol 1984; 223:46-56.

McNaughton FL, Feindel WH *Innervation of intracranial structures: a reappraisal*. In *Physiological aspects of clinical neurology* (Rose FC, ed) 1977; pp:279-293. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Micieli G, Tassorelli C, Bosone D, Cavallini A, Bellantonio P, Rossi F, Nappi G. *Increased cerebral blood flow velocity induced by cold pressor test in migraine: a possible basis for pathogenesis?* Cephalalgia. 1995; 15:494-8.

Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. *Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology*. Pharmacol Rev. 1991; 43:109-42.

Moskowitz MA. *Genes, proteases, cortical spreading depression and migraine impact on pathophysiology and treatment*. Funct Neurol. 2007; 22:133-6.

Moskowitz MA. *The neurobiology of vascular head pain*. Ann Neurol 1984; 16:157-168.

Moskowitz, MA. and Macfarlane, R . *Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches*. Cerebrovasc. Brain Metab. Rev 1993; 5:159-177.

Müller M and Marziniak M. *The linear behavior of the system middle cerebral artery flow velocity and blood pressure in patients with migraine: lack of autonomic control?* Stroke. 2005; 36:1886-90.

Nappi G, Costa A, Tassorelli C, Santorelli FM . *Migraine as a complex disease: heterogeneity, comorbidity and genotype-phenotype interactions*. Funct Neurol 2000; 15:87-93.

Nappi G, Sandrini G, Costa A, Santorelli FM. *Phenotype-genotype interactions in migraine: a complex disease*. Advanced Studies in Medicine 2001; 1:55-63.

Nedeltchev K, Arnold M, Schwerzmann M, Nirkko A, Lagger F, Mattle HP, Sturzenegger M. *Cerebrovascular response to repetitive visual stimulation in interictal migraine with aura*. Cephalalgia. 2004; 24:700-6.

Olesen J, Thomsen LL, Iversen H. *Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches*. Trends Pharmacol Sci. 1994; 15:149-53.

Olesen J, Thomsen LL, Lassen LH, Olesen JJ. *The nitric oxide hypothesis of migraine and other vascular headaches*. Cephalalgia 1995; 15(2):94-100.

Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM et al. *Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the calcium channel gene CACNL1A4*. Cell 1996, 87:543-552.

- Ozyalcin SN, Talu GK, Kiziltan E, Yucel B, Ertas M, Disci R. *The efficacy and safety of venlafaxine in the prophylaxis of migraine*. Headache. 2005; 45:144-52.
- Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. *Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension*. N Engl J Med 1990; 323:22-7.
- Peres MF, Zukerman E, Senne Soares CA, Alonso EO, Santos BF, Faulhaber MH. *Cerebrospinal fluid glutamate levels in chronic migraine*. Cephalalgia. 2004; 24:735-9.
- Peroutka SJ, Snyder SH. *Regulation of serotonin<sub>2</sub> (5-HT<sub>2</sub>) receptors labeled with [<sup>3</sup>H]spiroperidol by chronic treatment with the antidepressant amitriptyline*. J Pharmacol Exp Ther. 1980; 215:582-7.
- Pietrobon D. *Familial hemiplegic migraine*. Neurotherapeutics. 2007; 4:274-84.
- Pietrobon D. *Function and dysfunction of synaptic calcium channels: insights from mouse models*. Curr Opin Neurobiol. 2005; 15:257-65.
- Pietrobon D. *Migraine: new molecular mechanisms*. Neuroscientist. 2005;11:373-86.
- Pringsheim T, Diksic M, Dobson C, Nguyen K, Hamel E. *Selective decrease in serotonin synthesis rate in rat brainstem raphe nuclei following chronic administration of low doses of amitriptyline: an effect compatible with an anti-migraine effect*. Cephalalgia. 2003; 23:367-75.
- Ramadan TM and Buchanan NM. *New and future migraine therapy*. Pharmacology and Therapeutics. 2006; 112:199–212.
- Raskin NH, Hosobuchi Y, Lamb S. *Headache may arise from perturbation of brain*. Headache. 1987; 27:416-20.
- Reinhard M, Wehrle-Wieland E, Roth M, Niesen WD, Timmer J, Weiller C, Hetzel A. *Preserved dynamic cerebral autoregulation in the middle cerebral artery among persons with migraine*. Exp Brain Res. 2007; 180:517-23.
- Reveiz-Herault L, Cardona AF, Ospina EG, Carrillo P. *Effectiveness of flunarizine in the prophylaxis of migraine: a meta-analytical review of the literature*. Rev Neurol. 2003; 36:907-12.
- Richter F, Mikulik O, Ebersberger A, Schaible HG. *Noradrenergic agonists and antagonists influence migration of cortical spreading depression in rat—a possible mechanism of migraine prophylaxis and prevention of postischemic neuronal damage*. J Cereb Blood Flow Metab. 2005; 25:1225-35.

Ringelstein EB, Sievers C, Ecker S, Schneider PA, Otis SM. *Noninvasive assessment of CO<sub>2</sub>-induced cerebral vasomotor response in normal individuals and patients with internal carotid artery occlusions.* Stroke. 1988; 19:963-9.

Ringelstein EB, Van Eyck S, Mertens I. *Evaluation of cerebral vasomotor reactivity by various vasodilating stimuli: comparison of CO<sub>2</sub> to acetazolamide.* J Cereb Blood Flow Metab. 1992; 12:162-8

Rogawski MA and Löscher W. *The neurobiology of antiepileptic drugs.* Nat Rev Neurosci. 2004; 5:553-64.

Russell MB. *Is migraine a genetic illness? The various forms of migraine share a common genetic cause.* Neurol Sci 2008; 29 (Suppl 1):52-4.

Russell MB and Olesen J . *Increased familial risk and evidence of genetic factor in migraine.* Br Med J 1995; 311:541-544

Russell MB, Rasmussen BK, Thorvaldsen P, Olesen J. *Prevalence and sex-ratio of the subtypes of migraine.* Int J Epidemiol. 1995; 24(3):612-8.

Sánchez-del-Rio M and Reuter U. *Migraine aura: new information on underlying mechanisms.* Curr Opin Neurol. 2004;17:289-93.

Sándor PS, Afra J. *Nonpharmacologic treatment of migraine.* Curr Pain Headache Rep. 2005; 9:202-5.

Sándor PS, Ambrosini A, Agosti RM, Schoenen J. *Genetics of migraine: possible links to neurophysiological abnormalities.* Headache. 2002; 42:365-77.

Sarchielli P, Alberti A, Codini M, Floridi A, Gallai V. *Nitric oxide metabolites, prostaglandins and trigeminal vasoactive peptides in internal jugular vein blood during spontaneous migraine attacks.* Cephalalgia. 2000; 20:907-18.

Sarchielli P, Di Filippo M, Nardi K, Calabresi P. *Sensitization, glutamate, and the link between migraine and fibromyalgia.* Curr Pain Headache Rep. 2007; 11:343-51.

Schiffrin EL. *A critical review of the role of endothelial factors in the pathogenesis of hypertension.* J Cardiovasc Pharmacol 2001; 38 (Suppl 2):S3-6.

Schoenen J. *Neurophysiological features of the migrainous brain.* Neurol Sci. 2006; 27 (Suppl 2):S77-81.

Schoenen J, Ambrosini A, Sándor PS, Maertens de Noordhout A. *Evoked potentials and transcranial magnetic stimulation in migraine: published data and viewpoint on their pathophysiologic significance.* Clin Neurophysiol. 2003; 114:955-72.



Schwedt TJ, Dodick DW. *Advanced neuroimaging of migraine*. Lancet Neurol. 2009; 8:560-8.

Sessle BJ, Hu JW, Dubner R, Lucier GE. *Functional properties of neurons in cat trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn). II. Modulation of responses to noxious and nonnoxious stimuli by periaqueductal gray, nucleus raphe magnus, cerebral cortex, and afferent influences, and effect of naloxone*. J Neurophysiol. 1981; 45:193-207.

Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. *An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action*. Epilepsia. 2000; 41 (Suppl 1):S3-9.

Shibata K. Neurophysiology of visual aura in migraine. Brain Nerve 2007; 59:961-970.

Silberstein SD. *Preventive treatment of migraine*. Trends Pharmacol Sci. 2006; 27:410-5.

Silberstein SD, Goadsby PJ. *Migraine: preventive treatment*. Cephalalgia. 2002; 22:491-512.

Silberstein SD, Neto W, Schmitt J, Jacobs D; *MIGR-001 Study Group*. *Topiramate in migraine prevention: results of a large controlled trial*. Arch Neurol. 2004; 61:490-5

Silberstein SD, Peres MF, Hopkins MM, Shechter AL, Young WB, Rozen TD. *Olanzapine in the treatment of refractory migraine and chronic daily headache*. Headache. 2002; 42:515-8.

Silberstein SD, Tfelt-Hansen P, Dodick DW, Limmroth V, Lipton RB, Pascual J, Wang SJ. *Task Force of the International Headache Society Clinical Trials Subcommittee. Guidelines for controlled trials of prophylactic treatment of chronic migraine in adults*. Cephalalgia. 2008; 28:484-95.

Silva E, Hernandez L, Contreras Q, Guerrero F, Alba G. *Noxious stimulation increases glutamate and arginine in the periaqueductal gray matter in rats: a microdialysis study*. Pain. 2000; 87:131-5.

Silvestrini M, Baruffaldi R, Bartolini M, Vernieri F, Lanciotti C, Matteis M, Troisi E, Provinciali L. *Basilar and middle cerebral artery reactivity in patients with migraine*. Headache. 2004; 44:29-34.

Silvestrini M, Cupini LM, Troisi E, Matteis M, Bernardi G. *Estimation of cerebrovascular reactivity in migraine without aura*. Stroke. 1995; 26:81- 3.

Silvestrini M, Matteis M, Troisi E, Cupini LM, Bernardi G. *Cerebrovascular reactivity in migraine with and without aura*. Headache 1996; 36:37-40.

Silvestrini M, Troisi E, Matteis M, Cupini LM, Caltagirone C. *Transcranial Doppler assessment of cerebrovascular reactivity in symptomatic and asymptomatic severe carotid stenosis*. Stroke. 1996; 27:1970-3.

Smith JJ, Lee JG, Hudetz AG, Hillard CJ, Bosnjak ZJ, Kampine JP. *The role of nitric oxide in the cerebrovascular response to hypercapnia*. Anesth Analg. 1997; 84:363-9.

Sparaco M, Feleppa M, Lipton RB, Rapoport AM, Bigal ME. *Mitochondrial dysfunction and migraine: evidence and hypotheses*. Cephalalgia. 2006; 26:361-72.

Sprenger T, Goadsby PJ. *Migraine pathogenesis and state of pharmacological treatment options*. BMC Med 2009; 16;7:71.

Stewart WF, Lipton RB, Celentano DD, Reed ML. *Prevalence of migraine headache in the United States: relation to age, income, race and other sociodemographic factors*. JAMA 1992; 267:64-69.

Stewart WF, Schechter A, Lipton RB. *Migraine heterogeneity: disability, pain intensity, and attack frequency and duration*. Neurology 1994; 44 (suppl 4):S24-39.

Storer RJ, Goadsby PJ. *Topiramate inhibits trigeminovascular neurons in the cat*. Cephalalgia. 2004; 24:1049-56.

Stovner LJ. *Migraine prophylaxis with drugs influencing the renin-angiotensin system*. Eur J Neurol. 2007; 14:713-4.

Strassman A, Mason P, Moskowitz MA, Maciewicz R. *Response of brainstem trigeminal neurons to electrical stimulation of the dura*. Brain Res 1986; 379:242-250.

Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. *Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches*. Nature 1996; 384:560–564.

Takei M, Hiramatsu M, Mori A. *Inhibitory effects of calcium antagonists on mitochondrial swelling induced by lipid peroxidation or arachidonic acid in the rat brain in vitro*. Neurochem Res. 1994; 19:1199-206.

Tallksen-Greene SJ, Young AB, Penney JB, Beitz AJ. *Excitatory amino acid binding sites in the trigeminal principal sensory and spinal trigeminal nuclei of the rat*. Neurosci Lett. 1992; 141:79-83.

Taverna S, Sancini G, Mantegazza M, Franceschetti S, Avanzini G. *Inhibition of transient and persistent Na<sup>+</sup> current fractions by the new anticonvulsant topiramate.* J Pharmacol Exp Ther. 1999; 288:960-8.

Thie A, Fuhlendorf A, Spitzer K, Kunze K. *Transcranial Doppler evaluation of common and classic migraine. Part I. Ultrasonic features during the headache-free period.* Headache. 1990; 30:201-8.

Thie A, Fuhlendorf A, Spitzer K, Kunze K. *Transcranial Doppler evaluation of common and classic migraine. Part II. Ultrasonic features during attacks.* Headache. 1990; 30:209-15.

Tietjen GE. *Migraine as a systemic vasculopathy.* Cephalalgia 2009; 29(9):987-96.

Thomsen LL, Iversen HK, Olesen J. *Increased cerebrovascular pCO<sub>2</sub> reactivity in migraine with aura--a transcranial Doppler study during hyperventilation.* Cephalalgia 1995; 15:211-5.

Triggle DJ. *L-type calcium channels.* Curr Pharm Des. 2006; 12:443-57.

Veloso F, Kumar K, Toth C. *Headache secondary to deep brain implantation.* Headache. 1998; 38:507-15.

Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. *Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease.* Circulation 2008; 28:2054-9.

Vernieri F, Moro L, Altamura C, Palazzo P, Antonelli Incalzi R, Rossini PM, Pedone C. *Patients with migraine with aura have increased flow mediated dilation.* BMC Neurol. 2010; 10:10-18.

Vernieri F, Tibuzzi F, Pasqualetti P, Altamura C, Palazzo P, Rossini PM, Silvestrini M. *Increased cerebral vasomotor reactivity in migraine with aura: an autoregulation disorder? A transcranial Doppler and near-infrared spectroscopy study.* Cephalalgia 2008; 28:689-95.

Vikelis M, Mitsikostas DD. *The role of glutamate and its receptors in migraine.* CNS Neurol Disord Drug Targets. 2007; 6:251-7.

Von Reutern GM, von Bulingen HJ. *Ultrasound diagnosis of cerebrovascular disease.* New York: Georg Thieme, 1993.

Wei EP, Moskowitz MA, Boccalini P, Kontos HA. *Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles.* Circ. Res. 1992; 70:1313-1319.

- Welch KM, Nagesh V, Aurora SK, Gelman N. *Periaqueductal gray matter dysfunction in migraine: cause or the burden of illness?* Headache. 2001; 41:629-37.
- Wessman M, Terwindt GM, Kaunisto MA, Palotie A, Ophoff RA. *Migraine: a complex genetic disorder.* Lancet Neurol. 2007; 6:521-32.
- White HS, Brown SD, Woodhead JH, Skeen GA, Wolf HH. *Topiramate modulates GABA-evoked currents in murine cortical neurons by a nonbenzodiazepine mechanism.* Epilepsia. 2000; 41:S17-20.
- Wiedemann M, de Lima VM, Hanke W. *Effects of antimigraine drugs on retinal spreading depression.* Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 1996; 353:552-6.
- Williamson DJ, Hargreaves RJ, Hill RG, Shephard SL. *Intravital microscope studies on the effects of neurokinin agonists and calcitonin gene-related peptide on dural vessel diameter in the anaesthetized rat.* Cephalalgia. 1997; 17:518-24.
- Wolf HG *Headache and other head pain*, 2<sup>nd</sup> edn. 1963. New York: Oxford University Press.
- Xiao C, Zhou C, Atlas G, Delphin E, Ye JH. *Labetalol facilitates GABAergic transmission to rat periaqueductal gray neurons via antagonizing beta1-adrenergic receptors--a possible mechanism underlying labetalol-induced analgesia.* Brain Res. 2008; 1198:34-43.
- Zagami AS and Goadsby PJ. *Stimulation of the superior sagittal sinus increases metabolic activity in cat thalamus.* In: New advances in headache research. (Rose FC, ed) 1991; pp:169-171. London: Smith-Gordon and Co.